



**Imidazoltartalmú monohidroxámsavak oldatbeli
kölcshatása Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -ionokkal**

doktori (Ph.D.) értekezés

Csapó Edit

Témavezető: Dr. Farkas Etelka egyetemi tanár

Debreceni Egyetem
Természettudományi Doktori Tanács
Kémia Doktori Iskola
Debrecen, 2009

**Imidazoltartalmú monohidroxámsavak oldatbeli kölcsönhatása
 Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -ionokkal**

Értekezés a doktori (Ph.D.) fokozat megszerzése érdekében
a Kémia tudományban

Írta: **Csapó Edit** okleveles vegyész

Készült a Debreceni Egyetem Kémia Doktori Iskolája
(koordinációs kémia alprogramja) keretében

Témavezető: **Dr. Farkas Etelka** egyetemi tanár

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Dr.
tagok: Dr.
Dr.

A doktori szigorlat időpontja: 2009. december 14.

Az értekezés bírálói:

Dr.
Dr.
Dr.

A bírálóbizottság:

elnök: Dr.
tagok: Dr.
Dr.
Dr.
Dr.

Az értekezés védésének időpontja: 2010.

Ezen értekezést a Debreceni Egyetem TEK Kémia Doktori Iskola Koordinációs Kémia programja keretében készítettem a Debreceni Egyetem TEK doktori (Ph.D.) fokozatának elnyerése céljából.

Debrecen, 2010. január 31.

Csapó Edit

Tanúsítom, hogy Csapó Edit doktorjelölt 2006-2009 között a fent megnevezett Doktori Iskola Koordinációs Kémia programjának keretében irányításommal végezte munkáját. Az értekezésben foglalt eredményekhez a jelölt önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult. A doktori értekezés anyaga más Ph.D. dolgozat anyagát nem képezi.

Az értekezés elfogadását javaslom.

Debrecen, 2010. január 31.

Dr. Farkas Etelka
egyetemi tanár

KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

Összinté hálámat szeretném kifejezni témavezetőmnek, **Dr. Farkas Etelka** egyetemi tanárnak, akinek irányításával lehetőségem nyílt a DE Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszékének Bioszervetlen Kémiai Kutatócsoportjában folyó munkába bekapcsolódni, s jelen doktori értekezésem elkészíteni. Sokrétű, értékes szakmai tanácsai mellett köszönöm végtelen türelmét, megértését és biztatását.

Köszönettel tartozom **Dr. Buglyó Péter** egyetemi docensnek, aki az újonnan előállított ligandumok szintézisének nyújtott sokoldalú szakmai segítséget.

Köszönöm **Dr. Sóvágó Imre** egyetemi tanárnak a munkám során felmerülő néhány szakmai kérdésre adott hasznos javaslatait, valamint **Dr. Várnagy Katalin** egyetemi docensnek az oktatásban nyújtott sokrétű segítségét, baráti tanácsait.

Köszönöm **Hüse Ilona** technikusnak a laboratóriumi munkában való segítségét, valamint külön köszönettel tartozom **Nagyné Dombi Gizella** Tanszéki irodavezetőnek is, aki számos esetben volt segítségemre hivatalos ügyek intézésében.

Köszönettel tartozom a **Bioszervetlen Kémiai Kutatócsoport** minden régi és jelenlegi tagjának a munkám során adott tanácsaikért, segítségükért. Külön köszönöm **Dr. Bátka Dávid**, **Timári Sarolta**, **Szabó Orsolya** és **Bíró Linda Ph.D.** hallgatók biztatását, akikkel közös munkáink során szoros barátság is kialakult.

Szeretném megköszönni **Dr. Kurtán Tibornak** a CD mérések, **Dr. Nagy Lajosnak** az ESI-MS spektrumok, **Dr. Nagy Nóra Veronikának** és **Dr. Daniele Sannának** az ESR mérések elvégzése során nyújtott segítségét.

Köszönöm **Prof. Giuseppe Pappalardo** kutatócsoportjának (Sassari, Olaszország) a peptidhidroxámsavak szintézisének, valamint **Prof. M. Amélia Santosnak** (Lisszabon, Portugália), hogy lehetőségem nyílt egy hónap tanulmányút alkalmával a hidroxámsavak előállításához szükséges főbb lépéseket elsajátítanom kutatócsoportjában.

Végül, de nem utolsó sorban hálásan köszönöm szüleimnek és testvéremnek szeretetüket, támogatásukat valamint azt, hogy nyugodt és kiegyensúlyozott családi háttérrel biztosítottak.

TARTALOMJEGYZÉK

Az értekezésben használt rövidítések.....	1
1. BEVEZETÉS	2
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	6
2.1. A vizsgált fémionok koordinációs kémiája	6
2.2. A vizsgált fémionok biológiai jelentősége	7
2.3. A hidroxámsavak általános jellemzése, biológiai szerepük.....	9
2.4. A hidroxámsavak sav-bázis tulajdonságai.....	11
2.5. A hidroxámsavak és származékaik komplexképző sajátságai.....	13
2.6. Célkitűzések.....	23
3. KÍSÉRLETI KÖRÜLMÉNYEK ÉS VIZSGÁLATI MÓDSZEREK.....	24
3.1. Felhasznált vegyszerek és vizsgált ligandumok	24
3.2. Az új ligandumok előállítása	25
3.3. A vizsgálati módszerek elvi alapjai, alkalmazott kísérleti körülmények..	27
3.3.1. <i>pH-potenciometria</i>	27
3.3.2. <i>UV-látható spektrofotometria</i>	31
3.3.3. <i>Cirkuláris dikroizmus (CD) spektroszkópia</i>	33
3.3.4. <i>Elektronspin-rezonancia (ESR) spektroszkópia</i>	34
3.3.5. <i>Elektro-spray ionizációs tömegspektrometria (ESI-TOF-MS)</i>	36
3.3.6. <i>¹H NMR spektroszkópia</i>	36
4. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELEÉSÜK	38
4.1. A vizsgált ligandumok sav-bázis sajátságai	38
4.2. Az R _C oldalláncban amino-N vagy imidazol-N donorcsoportot tartalmazó monohidroxámsavak Cu ²⁺ -, Ni ²⁺ -, Zn ²⁺ -komplexei.....	43
4.2.1. <i>Az amino-oldalláncot tartalmazó ligandumok fémmegkötő sajátsága</i>	44
4.2.2. <i>Az imidazol-oldalláncot tartalmazó ligandumok fémmegkötő sajátsága</i>	49
4.3. Az R _C oldalláncban amino-N és imidazol-N donorcsoportot tartalmazó monohidroxámsavak Cu ²⁺ -, Ni ²⁺ -, Zn ²⁺ -komplexei.....	63
4.4. Az R _C oldalláncban amino-N, imidazol-N és peptidcsoportot tartalmazó monohidroxámsavak Cu ²⁺ -, Ni ²⁺ -, Zn ²⁺ -komplexei: hisztidintartalmú peptidhidroxámsavak.....	69

4.4.1. <i>A Cu^{2+}-, Ni^{2+}-, Zn^{2+}-AlaHisNHOH rendszerek</i>	70
4.4.2. <i>A Cu^{2+}-, Ni^{2+}-, Zn^{2+}-AlaAlaHisNHOH rendszerek</i>	76
4.4.3. <i>A Cu^{2+}-, Ni^{2+}-, Zn^{2+}-HisAlaNHOH és -HisAlaN(Me)OH rendszerek</i>	82
5. ÖSSZEFOGLALÁS	90
6. SUMMARY	94
7. IRODALOMJEGYZÉK	97
8. FÜGGELÉK	104

Az értekezésben előforduló rövidítések

MMP	mátrix metalloproteinázok
SOD	szuperoxid-diszmutáz (enzim)
DCC	diciklohexil-karbodiimid (kapcsolóreagens)
Z	benzil-oxi-karbonil (védőcsoport)
N _{imid}	imidazol-nitrogén
N _{am}	amino-nitrogén
N ⁻	deprotonált amid-nitrogén
N _{hidr}	hidroxamát-nitrogén
O _{hidr}	hidroxamát-oxigén
O _{karb}	karbonil-oxigén
Me	metilcsoport
DFB	desferrioxamin B
DFC	desferrikoprogén
DFE	desferrioxamin E
Aha	acetohidroxámsav
N-Me-Aha	N-metil-acetohidroxámsav
Asp-β-ha	Aszparaginsav-β-hidroxámsav
GABAha	4-aminobutánsav (GABA) hidroxámsav származéka
α-Alaha	α-alaninhidroxámsav
N-Me-α-Alaha	N-metil-α-alaninhidroxámsav
β-Alaha	β-alaninhidroxámsav
N-Me-β-Alaha	N-metil-β-alaninhidroxámsav
im-4-Cha	imidazol-4-karbohidroxámsav
N-Me-im-4-Cha	N-metil-imidazol-4-karbohidroxámsav
im-4-Aha	imidazol-4-acetohidroxámsav
Z-Hisha	Z-védett hisztidinhidroxámsav
AlaAlaNH ₂	Alanil-alanin dipeptid hidroxámsav származéka
AlaSerNH ₂	Alanil-szerin dipeptid hidroxámsav származéka
AlaGlyGlyNH ₂	Alanil-glicil-glicin tripeptid hidroxámsav származéka
AlaHisNH ₂	Alanil-hisztidin dipeptid hidroxámsav származéka
AlaAlaHisNH ₂	Alanil-alanil-hisztidin tripeptid hidroxámsav származéka
HisAlaNH ₂	Hisztidil-alanin dipeptid hidroxámsav származéka
HisAlaN(Me)OH	N-metil-hisztidil-alanin dipeptid hidroxámsav származéka
ProLeuNH ₂	Prolil-leucin dipeptid hidroxámsav származéka
ProLeuGlyNH ₂	Prolil-leucil-glicin tripeptid hidroxámsav származéka

1. BEVEZETÉS

Régóta ismert, hogy bizonyos átmenetifémionok létfontosságúak az élő szervezet számára. Többek között biomolekulák alkotóelemeiként meghatározó szerepet játszanak szerves molekulák szintézisében, szállításában illetve metalloenzimekben szerepelve biológiai rendszerek sav-bázis és redoxifolyamatainak katalizálásában. Jól ismert tény az is, hogy a fehérjék peptid és oldalláncbeli donorcsoportjai, sok esetben a hisztidin imidazol-nitrogénjei, jelentenek elsősorban potenciális fémmegkötő helyet a metalloenzim aktív centrumában lévő fémion(ok) számára. Számos olyan fehérjét és enzimet ismerünk, amelyben hisztidin-oldalláncához koordinált fémiont találunk, ilyenek például a szénsav-anhidrázok, hemoglobin, „kék”-rézproteinek, de akár a szuperoxid-diszmutázok is. Különböző biológiai, biokémiai kutatások egyik nagy ágát képezi a metalloenzimek működési mechanizmusának feltérképezése, de mindemellett működésük szabályozása is kiemelt fontossággal bír, pl. a rákgyógyászatban is. A közelmúltban különleges figyelem fordult többek között az egyik cinktartalmú metalloenzimcsalád, a mátrix metalloproteinázok (MMP) szelektív inhibíálásának tanulmányozására, mivel számos betegség, mint például a különféle ízületi gyulladások, periodontális betegségek, sclerosis multiplex kialakulása is az enzim túlműködésével hozható kapcsolatba. Az inhibíció során az inhibítor molekula az enzim aktív centrumában kötött fémion(ok)hoz koordinálódva képes a szubsztrát molekula megkötődését gátolni, ezáltal az enzim működését blokkolni. Számos kutatócsoport szintetizál ilyen szubsztrát-analóg inhibítor vegyületeket és az eredmények egyértelműen mutatják, hogy a hidroxámsavcsoport lehet az egyik legalkalmasabb fémion megkötő a mátrix metalloproteinázokkal vagy pl. egy másik, szintén cinktartalmú enzimcsalád, a hiszton-deacetilázokkal szemben hatásos inhibítor sajátságokat mutató molekulákban. A metalloenzim-inhibíció szelektivitása, a molekuláris felismerés jelentősen befolyásolható a hidroxámsavcsoporthoz kapcsolódó „oldallánc” szerkezetével, amely segít az enzim kötőhelyének azonosításában és a kötődés erősítésében másodlagos kölcsönhatások (pl. H-kötés, van der Waals kölcsönhatás) kialakításával. A hidroxámsavak (általános képlet: $\text{R}_\text{C}\text{CONR}_\text{N}\text{OH}$) metalloenzim-inhibíciós képessége mellett számos élettani hatásuk, pl. antitumor és antibiotikus,

is ismert, de a hidroxamát-alapú sziderofórok mindemellett kiemelt szerepet játszanak az alacsonyabb rendű élőlények Fe^{3+} -ion felvételében, szállításában és tárolásában.

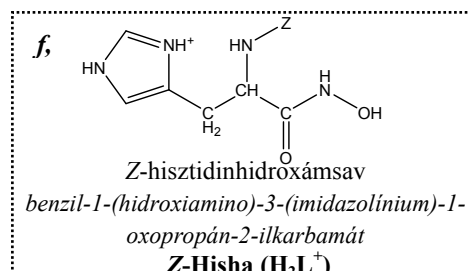
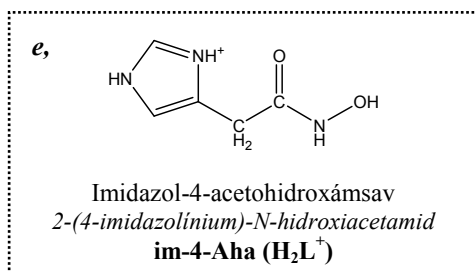
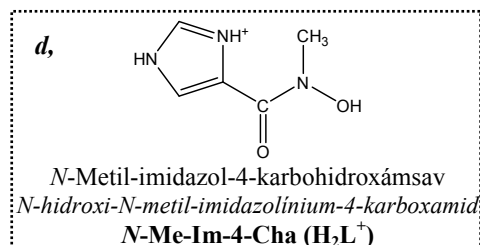
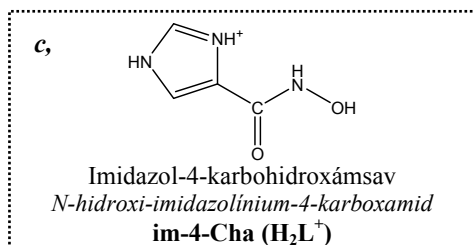
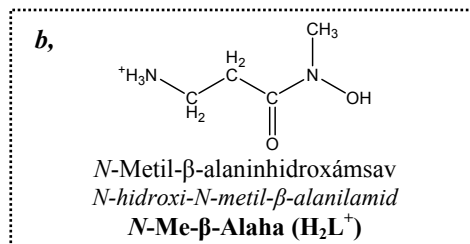
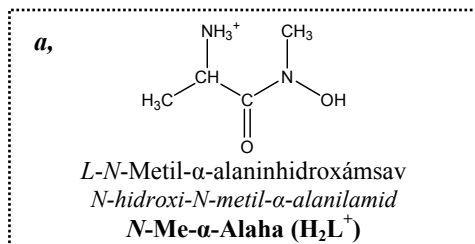
A jelen munka során 12 szintetikus előállított monohidroxámsav fémmegkötő sajátságát térképeztük fel Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -ionokkal, mely molekulák olyan különböző típusú, potenciális donorcsoport(ka)t tartalmaznak α -, β -, vagy γ -helyzetben a hidroxámsavcsoporttól, melyeket egy tervezett hidroxámsav-alapú inhibitor molekula is magában foglalhat, illetve szerepük lehet a fentebb említett másodlagos kölcsönhatások kialakításában. Nevezetesen, a vizsgált ligandumok közül öt esetében a hidroxámsavcsoport mellett a molekula R_C oldalláncában amino-N vagy imidazol-N található. A dolgozat anyagát képezte mindezen molekulák tanulmányozása mellett további két olyan monohidroxámsav koordinációs képességének feltérképezése is, melyek a fentebb említett donorcsoportokat (amino-N és imidazol-N) együtt tartalmazzák. Az oldategyensúlyi vizsgálatok e vegyületek mellett kiterjedtek négy olyan származékra is, melyeknél az amino-N és imidazol-N donorcsoportokon kívül peptidcsoport(ok) is megtalálhatóak a molekula R_C oldalláncában.

Mivel a fémionok és a ligandumok közötti oldatbeli kölcsönhatások alaposabb megismerése az egyik legfontosabb eszköz lehet az inhibíciós mechanizmus megértéséhez, ezért pH-potenciometriás és különféle szerkezetvizsgáló módszereket, többek között UV-látható spektrofotometria, ^1H NMR, ESR, CD spektroszkópia valamint ESI-MS spektrometria, alkalmaztunk a molekulák fémmegkötő sajátságának feltérképezésére. A vizsgált vegyületek szinte egyike sem kapható kereskedelmi forgalomban, ezért előállításuk egyrészt a DE Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszékén, másrészt együttműködésben, más európai kutatócsoportok munkája illetve szakmai tapasztalata révén történt. A tanulmányozott ligandumok protonált formáinak szerkezeti képlete az 1. ábrán összefoglalva, az R_C oldalláncban lévő donorcsoportok számának növelése sorrendjében látható. Célunk volt az „e, f, i, j” molekulák N-metil származékainak előállítása és tanulmányozása is, de a szintézisük során tett jelentős erőfeszítéseink nem jártak sikerrel.

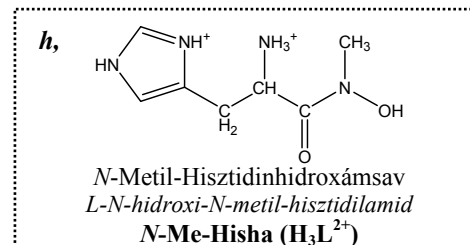
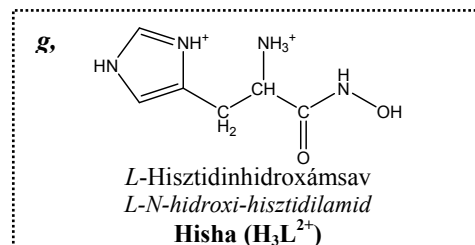
Imidazoltartalmú monohidroxámsavak oldatbeli kölcsönhatása Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -ionokkal

Amino- és imidazolhidroxámsavak

- Az R_C oldalláncban amino-N vagy imidazol-N donorcsoportot tartalmazó ligandumok:

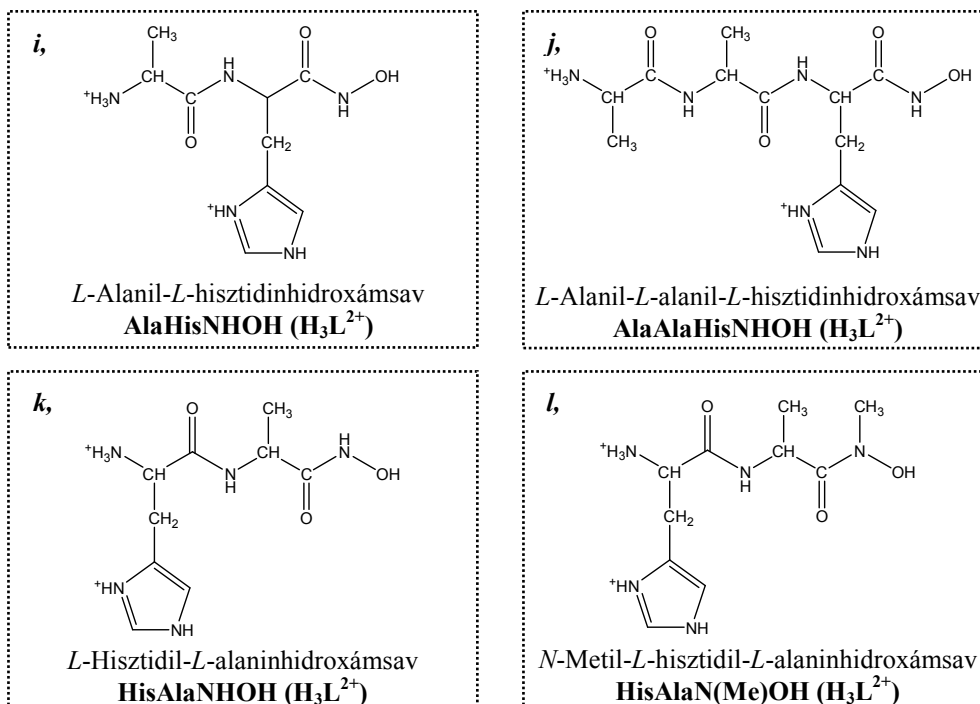


- Az R_C oldalláncban amino-N és imidazol-N donorcsoportot tartalmazó ligandumok:



Hisztidintartalmú peptidhidroxámsavak

- Az R_C oldalláncban amino-N, imidazol-N és peptidcsoporto(ka)t tartalmazó ligandumok:



1. ábra: A vizsgált monohidroxámsavak (*a-l*) protonált formáinak szerkezeti képlete

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A vizsgált fémionok koordinációs kémiája

A réztartalmú komplexekben a fémion leggyakrabban +2-es oxidációs számmal szerepel, de a +1-re is elég sok példa ismert. Előfordulhat a 0, +3 és +4-es oxidációs állapot is, de ezek elég ritkák. A rézkomplexek geometriája és koordinációs száma az oxidációs állapottal együtt változik. Vizes oldatban a Cu^+ -ion nagyon kevésbé stabilis, könnyen diszproporcionálódik. Ezen +1-es állapot egyrészt kis oldékonyságú vegyületek formájában, másrészt π -akceptor sajátságú ligandumokkal stabilizálható. A d^{10} -elektronkonfigurációjú Cu^+ -komplexek diamágnesesek és, ha csak nem könnyen polarizálható ligandumok vannak jelen a koordinációs szférában, akkor színtelenek is. A Cu^+ -komplexek egyre növekvő hányadát az oligomer és polimer vegyületek alkotják, amelyek fém-fém kötést nem tartalmaznak az ion elektronszerkezetéből adódóan. A Cu^{2+} -ion komplex-vegyületeiben a leggyakoribb koordinációs szám 4, 5 és 6. Szabályos geometriák a Jahn-Teller hatás következtében csak ritkán fordulnak elő, a síknégyzetes és tetragonálisan torzult oktaéderes szerkezetek között gyakran nem könnyű különbséget tenni. A Cu^{2+} -ionok mind a N- és O-donoratomot tartalmazó ligandumokkal is stabilis komplexeket képeznek [1].

A **nikkel** is 0 - +4 oxidációs számmal képez komplexeket. A leggyakoribb oxidációs állapot a +2, de jól ismertek a 0-ás oxidációs állapotú nikkelt tartalmazó komplexek is (pl. a tetraéderes geometriájú, diamágneses $\text{Ni}(\text{CO})_4$). A +2-es állapotú Ni^{2+} -ion d^8 -elektronkonfigurációjú, a jellemző koordinációs szám a 4, 5 és 6. A négyes koordinációjú Ni^{2+} -komplexek között a síknégyzetes geometria a leggyakoribb. Ezen komplexek döntően sárgák, vörösek vagy barnák. Mágneses tulajdonságaikat tekintve diamágnesesek, de egy esetben paramágneses síknégyzetes geometriájú komplexről is beszámoltak [2]. Jóval kisebb számban paramágneses sajátságú, tetraéderes Ni^{2+} -vegyületek is ismertek. Ötös koordinációs számmal négyzetes piramisos és trigonális bipiramisos geometriájú, míg hatos koordinációs számmal oktaéderes Ni^{2+} -komplexek képződnek.

A **cink** gyakorlatilag csak +2-es oxidációs állapotban képez komplexeket, amelyekben a koordinációs száma 2-8 között változhat. A tetraéderes és oktaéderes

komplexek a leggyakoribbak, de különösen kelátképző ligandumok esetén torzulhat a komplexek geometriája. Valószínűleg a $[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ -ion a leggyakoribb akvakomplex a Zn^{2+} -sók vizes oldataiban. A vizes oldatokra számottevő hidrolízis jellemző, amikor is $[\text{Zn}(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})_5]^+$ és $[\text{Zn}_2(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})_x]^{3+}$ hidroxokomplexek képződnek [1].

A három fémion közül az Irwing-Williams sor alapján a legstabilisabb komplexeket a Cu^{2+} -ion képi.

2.2. A vizsgált fémionok biológiai jelentősége

Egy átlagos testtömegű (~ 70 kg) felnőtt szervezete 100-150 mg **rezet** tartalmaz. Felszívódását aminosavak segítik elő, a bél falon aminosavkomplexekbe kötve jut át. A vérbe került réz kötésében két fehérje, az albumin és a ceruloplazmin vesznek részt. Csökkent ceruloplazmin termelés esetén a réz elsősorban a májban és az agyszövetekben halmozódik fel. Súlyos agyi rendellenességeket és a máj működésképtelenségét idézi elő, ami később halálhoz vezet (Wilson-kór). Nem csak a réz felhalmozódása, hanem hiánya is súlyos elváltozásokat idézhet elő a szellemi és fizikai fejlődésben (Menkes-kór). Számos réztartalmú metalloenzimet ismerünk. Elektrontranszfer funkciója van többek között a citokróm-c oxidázban, az azurinban valamint a plasztocianinban, de több rézproteinnek oxidáz (lakkáz, aszkorbinsav-oxidáz, tirozináz, stb.) valamint redukáz (dinitrogén-monoxid-reduktáz, szuperoxid-diszmutáz, stb.) funkciója is ismeretes [3].

A biológiai szempontból az aktív rézcentrumok három fő szerkezeti típusba sorolhatóak:

- I. „kék”-rézproteinek, melyek egyetlen réz-ionot tartalmaznak egy erősen torzult, 2N- és 2S-donoratom által meghatározott koordinációs környezetben. Ezek főleg növényekben fordulnak elő és a fotoszintézisben vesznek részt, mint elektrontranszfer proteinek.
- II. „nemkék”-rézproteinek, melyekre közel síknégyszetes koordináció alakul ki, esetenként gyenge axiális kölcsönhatásokkal, s jellemző ESR paraméterekkel.

- III. ESR inaktív rézproteinek, melyeknek két altípusa van. Egyik típusuk egy pár Cu^+ -iont tartalmaz egymástól 360 pm távolságra, melyek hisztidin-oldalláncokon kapcsolódnak (pl. hemocianin). A másik esetben két Cu^{2+} -ion található egymáshoz közel [3].

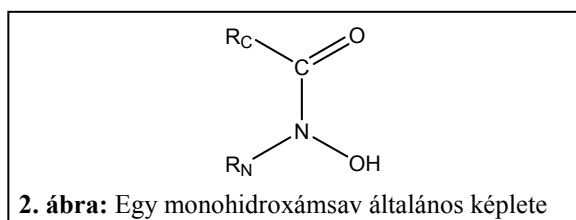
A **nikkel** biológiai szerepe az ureáz enzim nikkeltartalmának azonosításáig (1975-ig) ismeretlen volt. A karbamid hidrolízisét katalizáló ureázok számos növényben és baktériumban, de magasabb rendű élőlényekben is megtalálhatóak. Aktív centruma két Ni^{2+} -iont tartalmaz, melyek egy karboxilátsoporton keresztül kapcsolódnak egymáshoz. Az egyik nikkelt ezen kívül két nitrogén-donoratom koordinálja, míg a negyedik kötési hely feltehetően a karbamid molekula kapcsolódására szolgálhat. A másik Ni^{2+} -ion trigonális bipiramisos szerkezetű [1]. Egy átlagos testtömegű felnőtt szervezet 7-10 mg nikkelt tartalmaz. Az ureáz mellett ma már egyre több nikkeltartalmú enzim ismeretes [4-6]. Ilyenek például a hidrogén vízzé történő oxidációját katalizáló NiFe hidrogenázok, a metil-koenzim M és a koenzim B metánná történő redukcióját szabályzó metil-koenzim M reduktáz, a CO reverzibilis oxidációját CO_2 -dá katalizáló CO-dehidrogenáz. Mindezek mellett a *Streptomyces seoulensis*-ből izolált, 117 aminosavból álló fehérje, a Ni-SOD kristályszerkezete is igazolást nyert 2004-ben [7-8].

A **cink** az élő szervezetben a 2. leggyakoribb nyomelem, közelítőleg 200 cinktartalmú fehérjében kötve fordul elő. Az aminosavak közül döntően a cisztein, a hisztidin, a glutaminsav és az aszparaginsav oldalláncbéli donorcsoportjai a kiemelt koordinációs helyek a Zn^{2+} -ionok számára. Egy átlagos testtömegű felnőtt emberi szervezet 2-3 g cinket tartalmaz, melynek közel 60 %-a az izomszövetben, és kb. 30 %-a a csontban halmozódik fel. Az alkoholos állapot növeli a szervezet cinkszükségletét, hiszen egyik fontos előfordulása az alkohol lebontását katalizáló alkohol-dehidrogenáz enzimben van. Hiánya növekedési zavart (törpenövés), látászavart, bőrelváltozást, hajhullást és sebesedést okoz, de mindemellett esetenként impotenciát, mentális zavart valamint étvágytalanságot is. A kevésbé toxikus nehézfémek közé tartozik, az élő szervezet viszonylag nagy mennyiségű cinket képes tolerálni, így specifikus felesleg betegsége nem nagyon ismeretes. Biológiai rendszerekben a fémion többféle szerepet tölthet be. Lehet a konformáció biztosítása a cél, valamint lehet az aktív centrum része, ami a katalitikus hatásért felelős. A szénsav-anhidrázban, karboxi-peptidázban, termolizinben a cinknek katalitikus aktivitása van, míg az alkohol-dehidrogenáz vagy a Cu/Zn SOD enzim a

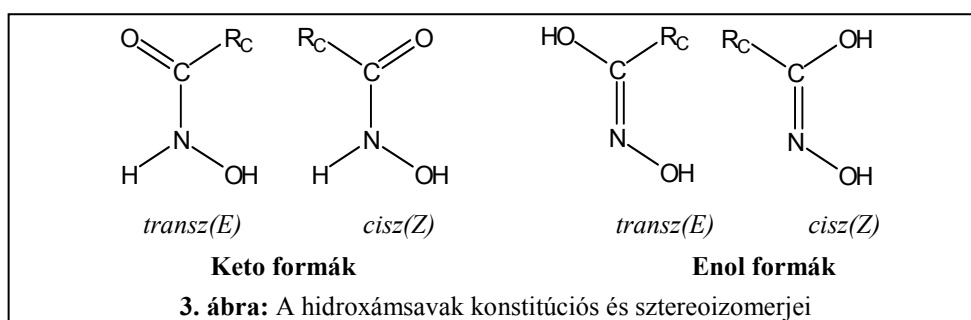
cink szerkezetalkító szerepére lehet példa. A cink egy újabban felismert funkciója a „cink-ujjak”-hoz köthető. Ezen cinktartalmú fehérjék a DNS bázisszekvenciájának a felismerésében játszanak szerepet, konkrétan a DNS replikációja során szabályozzák a genetikai információ átadását [3].

2.3. A hidroxámsavak általános jellemezése, biológiai szerepük

Hidroxámsavaknak nevezzük mindazon molekulákat, amelyek a 2. ábrán látható hidroxámsavcsoportot tartalmazzák.



Az R_N szubsztituenstől függően megkülönböztetünk primer ($R_N = H$), illetve szekunder ($R_N =$ hidrogéntől eltérő egyéb szerves funkcióscsoport, pl. alkil, aril stb.), hidroxámsavakat. Csoportosításuk a funkcióscsoportok száma alapján is történhet. Monohidroxámsavaknak nevezzük az egy hidroxámsavcsoportot, míg di- és trihidroxámsavaknak a kettő illetve három funkcióscsoportot magukban foglaló molekulákat. A 2. ábra egy általános szerkezetet mutat, a hidroxamát-nitrogénhez kapcsolódó hidrogén átvándorlásával oldatban létrejöhetnek keto-enol tautomerek a 3. ábrán látható módon.



A keto-enol konstitúciós izomerek aránya pH-függő, savas pH-n a keto, lúgos közegben az enol forma a jellemzőbb [9]. A hidroxámsavcsoport C-N kötése

mentén a rotáció gátolt, emiatt *cisz*(Z) és *transz*(E) sztereoizomerek jelennek meg. Természetesen ezen izomerek, ahogy a 3. ábra is mutatja, létezhetnek mind a *keto*, mind az *enol* forma esetén. NMR vizsgálatok igazolták, hogy oldatban mind a négyféle izomer jelen lehet [10]. Bizonyították, hogy az egyensúlyban levő izomerek arányára a különböző R_C szubsztituensek alapvető befolyással bírnak [11]. A hidrogént tartalmazó acetohidroxámsavnál a *cisz*(Z)-forma adódott stabilisabbnak, míg nagy térkitöltésű csoportokat (metil-, fenil-) tartalmazó ligandumok esetében a *transz*(E)-forma a stabilisabb oldatfázisban [12]. A *cisz*(Z)-formát a szolvatáció során a koordinált vízmolekulák is stabilizálják, gázfázisban a *transz*(E)-forma, a kisebb térbeli gátlás miatt, kedvezményezettebb [13].

Az első hidroxámsavat a XIX sz. közepén állították elő, a XX. század elején már ismert vegyületcsalád lett, 1943-ban egy összefoglaló közlemény is megjelent szerkezetük, lehetséges előállítási folyamataik bemutatásáról [14]. Az irodalomban a vegyületcsalád előállítására többféle mód ismeretes, leggyakrabban hidroxilamin és aktív acilcsoporttal rendelkező karbonsavszármazékok (savkloridok, észterek stb.) reakciója eredményez hidroxámsavakat [15]. Tapasztalat szerint szekunder hidroxilamin (pl. *N*-metil-hidroxilamin) használata esetén nehezebben megy végbe a karbonsav-észterrel való reakció, mint ha primer hidroxilamint alkalmaznánk. Bizonyos esetekben a karbonsavszármazék előállításakor alkalmazott reakciókörülmények a kiindulási anyag bomlását eredményezhetik, melyre a peptidszintézisben alkalmazott kapcsolóreagens használata lehet a megoldás. Ha pl. DCC (diciklohexil-karbodiimid) kapcsolóreagens jelenlétében reagáltatunk hidroxilamint karbonsavval, akkor szintén hidroxámsavhoz jutunk [16]. Egy további lehetőség az ún. vegyes savanhidrid módszer, amikor karbonsav és klórhangyasav-etilészter reakciójában reaktív vegyes savanhidrid keletkezik, mely hidroxilaminnal szén-dioxid és etanol kihasadása mellett hidroxámsavat eredményez. (A jelen dolgozatban tanulmányozott ligandumok előállítására, kivéve a peptidhidroxámsavakat, sok esetben ezen általános módszereket kiegészítve, helyenként módosítva alkalmaztuk.)

A hidroxámsavak igazán a figyelem középpontjába akkor kerültek, mikor felismerték, hogy egyes természetes vegyületek, konkrétan a sziderofórok, is tartalmaznak hidroxámsavcsoportot. A mikroorganizmusok által termelt sziderofórok az alacsonyabb rendű élőlényekben a Fe^{3+} -ion felvételében, szállításában, valamint tárolásában játszanak meghatározó szerepet [17-18]. A

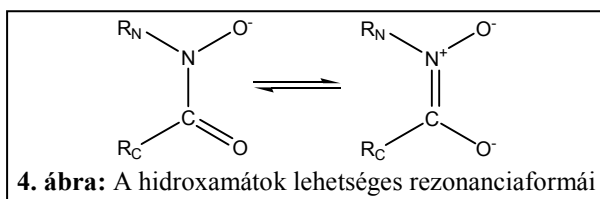
magasabb rendű élőlényekben ezen funkciót a ferritin és a transferrin végzik [3]. A hidroxamát-alapú siderofórok, mint a desferrioxamin B (DFB) vagy desferrikoprogén (DFC) mellett megkülönböztetünk még katecholát és α -hidroxikarboxilát típusú siderofórokat is. Az előbbire az enterobactin, míg az utóbbira a rhizoferrin egy-egy tipikus példa. A hidroxámsavak siderofórokbeli szerepén kívül antibiotikus, antitumor hatásuk is ismert. Az utóbbi években kiemelt figyelmet kap, hogy a hidroxámsavak a Fe^{3+} -ion mellett egyéb, biológiailag aktív fémionnal is stabilis komplexet képeznek. Ezen stabilis fémmegkötő sajátossággal lehetővé válik, hogy a metalloenzimek aktív centrumában kötött fémionok szabad koordinációs helyeire kötődjenek, mellyel reverzibilisen meggátolják a szubsztrát kötődését. Ilyen metalloenzim inhibíciós hatást korábban már kimutattak az egyszerű acetohidroxámsav (Aha) esetén, mely hatásos blokkolója a nikkeltartalmú ureáz enzimnek [19-20], mindemellett a prolil-leucil-glicin tripeptid monohidroxámsav származéka (ProLeuGlyNHOH) már évtizedek óta a kollagenáz enzim inhibitoraként szabadalmaztatott vegyület [21]. Néhány éve az irodalomban egyre több összefoglaló közlemény jelenik meg a cinktartalmú mátrix metalloproteináz (MMP) enzimes család hidroxámsavakkal történő szelektív, igen hatásosnak bizonyult inhibíciójának tanulmányozására [22-29]. Ezen munkák során megállapították, hogy pl. egy tervezett, potenciális MMP inhibitor molekulának különféle szerkezeti sajátosságokkal kell rendelkeznie. Nevezetesen: (i) tartalmaznia kell legalább egy olyan funkciócsoportot, amely az enzim aktív centrumában lévő fémion(ok)hoz koordinálódni képes (ez lehet: karboxilát, foszfonát, szulfonát, hidroxamát); (ii) rendelkeznie kell legalább egy olyan csoporttal is, mely hidrogénkötés kialakítására képes az enzim alkötőhelyeivel (sok esetben ez peptidvázat jelent); (iii) továbbá egy vagy több olyan oldallánca is legyen, mely a szelektivitást biztosító további kölcsönhatásra (pl. van der Waals kölcsönhatás) képes [22].

2.4. A hidroxámsavak sav-bázis tulajdonságai

A hidroxámsavak vizes oldatban gyengén savas karakterű vegyületek, a pK_s leggyakrabban a 8,5 - 9,5 tartományon belül van [18, 30]. A proton lazítottságát befolyásolhatja az R_N és R_C csoport elektronszívó/elektronküldő jellege. Az R_N helyzetben lévő elektronküldő szubsztituens a hidroxamát bázicitásának

csökkenését eredményezi (pl. $\text{pK}_{\text{Aha}} = 9,27$, míg *N*-metil származéka esetén $\text{pK}_{\text{NMeAha}} = 8,70$ [30-31].

A ligandum hidroxilcsoportjának deprotonálódásával képződő, a 4. ábrán bemutatott monoanionos forma, a hidroxamát, kétféle határszerkezettel jellemezhető, melyet NMR mérésekkel is bizonyítottak [32]. A nitrogén nemkötő



elektronpárja a C-N kötés mentén részben delokalizálódhat, melynek eredményeként a nitrogénen parciális pozitív, a karbonil-

oxigénen, ahogy az ábrán is jelölve látható, részleges negatív töltés alakul ki, mely stabilizálja a kialakult szerkezetet.

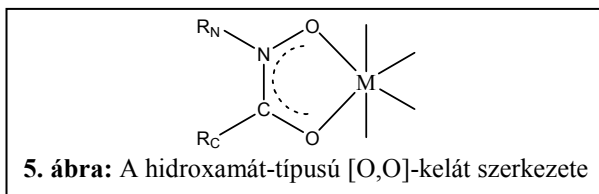
Természetesen egy hidroxámsavcsoportot tartalmazó vegyület egyéb, deprotonálódásra képes funkciócsoportot is tartalmazhat, mint pl. ammónium-, imidazólium- vagy karboxilcsoport. A jelen munka során tanulmányozott ligandumok is kettő illetve három disszociálisan protont hordozó donorcsoportot tartalmaznak. A pH-potenciometria segítségével, mely a proton eredetére nem érzékeny módszer, minden esetben csak makroállandók határozhatók meg. Az individuális csoportokhoz, ha a lépcsőzetes folyamatok elválóak, az állandók kémiai evidenciák alapján hozzárendelhetők. Amennyiben a különböző funkciócsoportok átfedő folyamatban deprotonálódnak, úgy a hozzárendelés már nem tehető meg. Ilyen átfedő deprotonálódás figyelhető meg számos aminosav esetében is, ahol az ammónium- és a hidroxámsavcsoportok pH 7-10 közötti tartományban deprotonálódnak. ^1H NMR technikával lehetőség nyílik az egyes csoportok protonálódási mikroállandóit, melyek már az individuális csoportokhoz tartozó értékek, meghatározni. Korábbi munkák során néhány aminosav (pl. α -Alaha, β -Alaha) esetében ilyen meghatározások már megtörténtek [33]. A mérések eredményeként egyrészt megállapítást nyert, hogy az α -Alaha esetén az ammóniumcsoport valamelyest savasabb ($\text{pK}_{\text{amino}} = 7,48$, $\text{pK}_{\text{hidrox}} = 7,90$), mint a hidroxámsavcsoport. Ezen savassági trend megfordul a β -Alaha ($\text{pK}_{\text{amino}} = 8,85$, $\text{pK}_{\text{hidrox}} = 8,47$) esetében, mely az aminocsoport távolabbi, β -helyzete révén a két csoport egymásra kifejtett elektronszívó hatásának kisebb mértékben való érvényesülésével magyarázható [33].

Az ammónium- és hidroxámsavcsoportok mellett további deprotonálódásra képes donorcsoportokat, mint pl. imidazóliumcsoport is magában foglalhat a ligandum. Ebben a témakörben, az általunk tanulmányozott ligandumok közül a hisztidinhidroxámsav esetén tettek kísérletet a mikroállandók meghatározására. Kimutatták, hogy mindhárom proton disszociációja átfedő folyamatban történik, a mikroállandók pontos meghatározása azonban nem járt eredménnyel [34-36]. Minden kétséget kizáróan az NMR eredmények azt mutatták, hogy az imidazóliumcsoport a legsavasabb mindhárom közül, de a mérések a másik két csoportra nem adtak egyértelmű trendet [34-36].

A peptidek hidroxámsav származékainak oldategyensúlyi tanulmányozásával kapcsolatos irodalom szegényesnek mondható [37-38]. Kutatócsoportunkban a 90-es évek elején a ProLeuNHOH és ProLeuGlyNHOH ligandumok oldategyensúlyi tanulmányozásával kezdődött a peptidhidroxámsavak vizsgálata és a kutatómunka néhány éve, többek között az AlaAla, AlaSer, és AlaGlyGly peptidek primer és szekunder hidroxámsav származékainak fémmegkötő sajátságával folytatódott [39-42]. Ezen molekulák csak két deprotonálódásra képes csoportot, az ammónium- és hidroxámsavcsoportokat tartalmazzák, melyek átfedő folyamatban veszítik el protonjaikat. Néhány ligandum esetében a mikroállandók NMR technikával történő meghatározása sikerrel járt, s az eredmények egyértelműen mutatták, hogy az aminocsoport bázicitása kisebb a hidroxamátcsoportéhoz képest [40] (pl. AlaAlaNHOH: $pK_{\text{amino}} = 7,71$; $pK_{\text{hidrox}} = 8,63$; AlaSerNHOH: $pK_{\text{amino}} = 7,73$; $pK_{\text{hidrox}} = 8,32$).

2.5. A hidroxámsavak és származékaik komplexképző sajátságai

A hidroxámsavak, ha R_N és R_C szubsztituensei egyéb koordinálódásra képes donoratomot nem tartalmaznak, általában a fémionokhoz az 5. ábrán látható módon O-donoratomjaikon koordinálódnak, stabilis, öttagú kelátgyűrűt kialakítva.



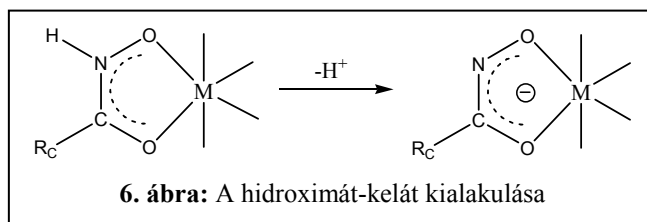
A hidroxamát-kelát N-donoratomján keresztüli záródása, mely a karbonil-oxigénnel négytagú gyűrűt képezne, az irodalomból eddig nem ismeretes.

A hidroxamát típusú kelát kialakulását elsőként Schwarzenbach és mts-i írták le 1963-ban [43-45]. Munkájuk során az aceto-, és benzohidroxámsavak mellett a DFB és ciklikus származéka, a desferrioxamin E (DFE) fémmegkötő sajátságát is tanulmányozták számos +2-es oxidációs állapotú átmenetifémionnal, valamint a Ca^{2+} - és Fe^{3+} -ionokkal is [43-45]. Az 1970-es és '80-as években Crumbliss, Raymond és Martell munkássága tovább szélesítette a hidroxámsavak fémmegkötő sajátságainak ismeretét [46-50]. Pl. Martell és mts-i vizsgálatai arra mutattak rá, hogy a hidroxámsavak +3-as oxidációs állapotú hard fémionokhoz nagyobb affinitást mutattak, mint a +2-es állapotúakhoz [48].

A Debreceni Egyetem Szervetlen Kémiai Tanszékének Bioszervetlen Kémiai Kutatócsoportjában már több mint két évtizede foglalkoznak különböző hidroxámsavak oldategyensúlyi vizsgálatával. Tanulmányozták számos szintetikus mono-, és dihidroxámsav molekula [30-31, 51-57], valamint trihidroxámsav típusú természetes sziderofórok [51, 58-62] komplexképződési folyamatait. A vizsgált fémionok között szerepelt nagyszámú átmenetifémion, de a Ca^{2+} -, Mg^{2+} - és Al^{3+} -ionokkal is történtek vizsgálatok. Következtetéseket vontak le többek között a hidroxámsavak R_N és R_C alkil, aril szubsztituenseinek, a hidroxámsavcsoportok számának, valamint az őket összekötő szénláncok hosszának fémmegkötésre gyakorolt hatására vonatkozóan is. Megállapították pl., hogy elektronküldő csoportok R_C helyzetben kismértékben, R_N helyzetben számottevőbb mértékben növelik a kelát stabilitását [31]. Ez az effektusbeli különbség a Fe^{3+} -ion esetén mérhetően nagy, a kétértékű fémionok esetén már alig figyelhető meg. Az R_N helyzetben lévő elektronküldő csoportok stabilitásnövelő hatása azzal magyarázható, hogy a komplexképződés miatt létrejött elektron-delokalizációban a nitrogén nemkötő elektronja is részt vesz, parciális pozitív töltést létrehozva azon. Ezt az elektronhiányt elektronküldő szubsztituensek csökkenthetik, ennek eredményeképpen a karbonilcsoport szénatomján megnő az elektronsűrűség és a nagyobb bázicitás miatt a képződő komplex stabilisabb lesz.

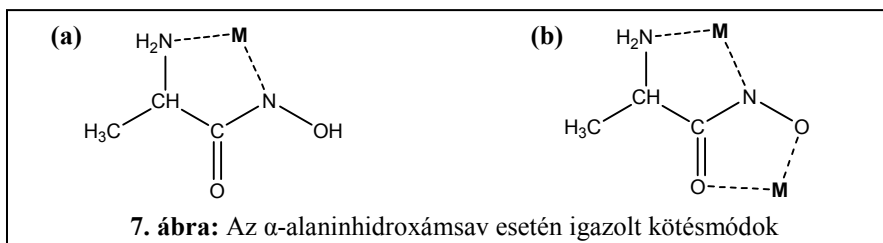
Néhány primer hidroxámsav Cu^{2+} -, Fe^{3+} -, Pd^{2+} -, Ru^{3+} - és Mo(VI)-komplexe esetén pH-potenciometriás, UV-látható valamint ESR mérésekkel igazolták azt is, hogy a kellően nagy stabilitású komplexekben fémiontól függő pH-n a koordinált

hidroxamát deprotonálódásra képes, és a 6. ábrán látható módon egy nagyobb stabilitású hidroximát-kelát alakul ki [30, 59].



Természetesen egy hidroxámsav molekula R_C oldalláncában az alkil vagy aril lánc helyett olyan csoport is lehet, mely koordinálódásra képes donortomot is magában foglal. Ezen vegyületsaládba sorolhatóak a széles körben tanulmányozott aminosavak hidroxámsav származékai, melyek a hidroxámsavcsoporthoz képest α -, vagy β -helyzetben tartalmaznak legalább egy aminocsoportot. Az irodalomban korábban több közlemény jelent meg egyszerű, alifás oldalláncú aminosavak (pl. glicin, alanin, leucin stb.) hidroxámsav származékainak oldategyensúlyi vizsgálatával kapcsolatban [63-68], de a Tanszéki kutatómunkák eredményei is nagyban hozzájárultak ezen molekulák komplexképző sajátságainak az alaposabb megismeréséhez [33, 36, 69-72]. Számos aminohidroxámsav fémmegkötő tulajdonságának jellemzésével részletesen foglalkozik egy 1992-ben megjelent összefoglaló közlemény is, melyben található adatoknak egy jelentős része a Tanszéki kutatómunkák eredménye [36].

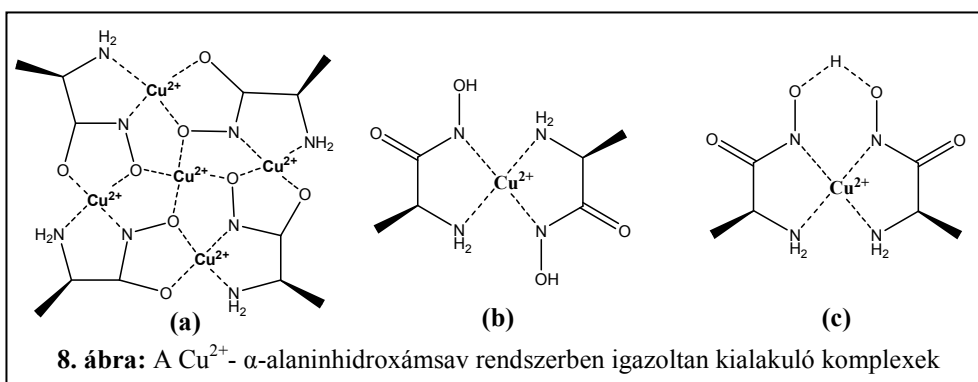
Az aminocsoport, ahogy a 2.4 fejezetben részleteztük, nemcsak a ligandum sav-bázis sajátságát befolyásolja, hanem jelenléte a molekula koordinációs módjainak lehetőségét is szélesíti. Példaként az α -alaninhidroxámsav esetén az aminocsoport részvételével kialakuló és közleményekben már igazolt kötémódok a 7. ábrán láthatóak. Lehetőség van az 5. ábrán már bemutatott hidroxamát 5-tagú [O,O]-kelát kialakulására is, feltüntetését ismételtten nem tesszük meg.



Imidazoltartalmú monohidroxámsavak oldatbeli kölcsönhatása Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -ionokkal

Az amino-N és hidroxamát-N részvételével, ahogy azt a 7./a ábra mutatja, egy öttagú $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{hydr}}]$ -kelát kialakulására is lehetőség van, de ha ezen kelát a hidroxamát $[\text{O}, \text{O}]$ -keláttal összemérhető stabilitású, akkor kialakulásuk egyidejűleg, többmagvú komplexben is lehetséges (7./b ábra) [36].

A bemutatott, lehetséges koordinációs módokkal képződő komplexeket fémiontól, vizsgálati körülményektől függően (pl. pH, fémion-ligandum arány) számos variációban bizonyították [36]. A jelen doktori munka során vizsgált fémionok közül a 7./a ábra szerinti $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{hydr}}]$ -kelát dominanciája egyértelmű a Ni^{2+} -ionnal, melyet először Brown és mts-i a Ni^{2+} -glicinhidroxámsav rendszerben képződő 1:2 fémion-ligandum arányú komplex esetén igazoltak röntgendiffrakciós vizsgálatokkal [73]. A két $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{hydr}}]$ -kelát együttes koordinációját sok α -aminohidroxámsav származék esetén is kimutatták, többek között a Cu^{2+} - α -alaninhidroxámsav rendszerben is [36]. Az eredmények egyértelműen mutatják e rendszer esetén, hogy a koordináció $\text{pH} = 3$ felett a hidroxamát-oxigéneken keresztüli kötődéssel indul, de $\text{pH} > 6$ esetén tisztán a nitrogéneken kötődik a ligandum a fémionhoz (8./b ábra). A kialakult 4N-es komplex stabilitása $\text{pH} = 9$ felett még nagyobbá válik, ugyanis a koordinált hidroxamátok egyike protonjának leadását követően a másik hidroxamát-OH-val hidrogénkötésbe lép, mely kialakult kötésmód a ligandumok egymáshoz képesti *cisz(Z)* elrendeződésével valósulhat meg (8./c ábra). A köztes, viszonylag szűk $\text{pH} = 4 - 6$ tartományban egy többmagvú részecske képződik kb. 40 %-ban, melyben a ligandum az $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{hydr}}]$ - és $[\text{O}, \text{O}]$ -donorcsoportokon át egyaránt koordinálódik egy-egy fémionhoz.

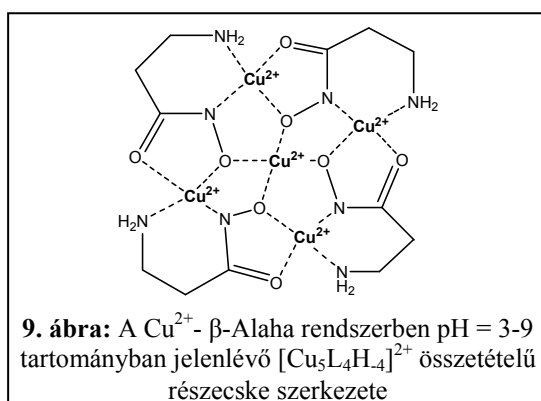


Ezen többmagvú részecske szerkezetét Pecoraro és mts-i egy 2001-ben megjelent közleményben 5 fémion és 5 ligandum kapcsolódásaként tételte fel [74], de az

oldatban létező valós szerkezetet Dallavalle és mts-i ESI-MS módszerrel a 8./a ábrán látható összetételének azonosította [75]. Mindezek alapján 4 fémion 4 ligandummal alkot egy jól definiált gyűrűt, és egy további fémiont a gyűrű közepén köthetnek a ligandumok.

A Cu^{2+} -ionnal ellentétben a Ni^{2+} -ion a 8./b ábrán feltüntetett módon, kizárólag a nitrogéneken keresztül koordinálódik a fémionhoz, a képződő biszkomplexek nagy stabilitásúak, jellemzően síknégyszetes geometriájúak [36, 69]. A Zn^{2+} -komplexek esetén vegyes koordinációs módot igazoltak, de a hidroxamát-oxigének preferáltságát nagyobbak találták [34, 36, 69].

A β -aminohidroxámsavaknál már az aminocsoport, β -helyzetének köszönhetően, a hidroxamát-N-nel hattagú $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{hidr}}]$ -kelát kialakítására képes. Az eredmények alapján a Ni^{2+} -komplexek esetén teljesen hasonló koordinációs módot



állapítottak meg, mint az α -származékoknál, a síknégyszetes, négy nitrogéneken keresztüli koordinációt UV-látható spektrofotometriával igazolták [71], míg a Zn^{2+} - β -aminohidroxámsav rendszerekben a teljes vizsgált pH-tartományban a hidroxamátszerű koordinációt találták dominánsnak [36, 71]. A

Cu^{2+} - β -alaninhidroxámsav rendszerben, az α -származékhoz képest, nagyobb mértékű változás figyelhető meg, mint az a másik két fémion rendszereiben megállapítható volt. A koordináció ugyan itt is a hidroxamát-oxigéneken keresztüli kötődéssel indul, de pH > 4 felett az 5-tagú $[\text{O}, \text{O}]$ - és 6-tagú $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{hidr}}]$ -kelátok egyidejű koordinációja egy rendkívül stabilis, fémkorona típusú komplexben valósul meg. Ezen részecske nagy stabilitását, mely pH > 4 felett egyeduralgoként, 100%-ban van jelen a rendszerben, az öttagúhoz képesti kisebb stabilitású hattagú $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{hidr}}]$ - kelátnak a hidroxamát $[\text{O}, \text{O}]$ -keláttal széles pH tartománybeli összemérhető stabilitása eredményezheti. A fémkorona típusú vegyület szerkezete, melyet először Tanszéki munka révén igazoltak oldatban illetve röntgendiffrakciós mérések révén szilárd fázisban is, a 9. ábrán látható [70]. A fémkorona vegyület jelenlétét Dallavalle és mts-i később ESI-MS mérésekkel is

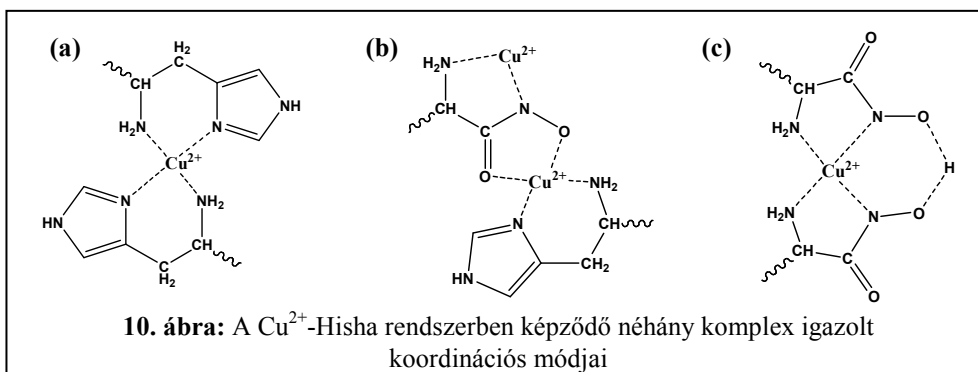
Imidazoltartalmú monohidroxámsavak oldatbeli kölcsönhatása Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -ionokkal

alátámasztották [75]. Ezen módszerrel a szerzők több Cu^{2+} -aminohidroxámsav rendszerben is ki tudták mutatni a fémkorona típusú komplex jelenlétét. Így pl. a fenilalanin és triptofán hidroxámsavak valamint az Asp- β -ha esetén is igazolták a $[\text{Cu}_5\text{L}_4\text{H}_{-4}]$ összetételnek megfelelő részecske jelentét [75-77]. Szintén Dallavalle és mts-i munkája révén 2007-ben megjelent egy közlemény az aminosoprotot már γ -helyzetben tartalmazó hidroxámsav származék (GABAha) komplexképző sajátságaira vonatkozóan [78]. Ezen ligandumnál az aminosoprot γ -helyzete következtében az $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{hidr}}]$ -kelát héttagú, ami jól ismert, hogy sokkal kisebb stabilitású az öt- és hattagúhoz képest. Meglepő módon azonban a Cu^{2+} -tartalmú rendszerben a fémkorona típusú vegyület jelenlétét igazolták az ESI-MS mérések, mely komplex pH = 6,5 felett szinte egyedüli részecskeként van jelen a tanulmányozott rendszerben. Az α -, β - és γ -aminohidroxámsavak rendszereiben képződő fémkorona komplexek stabilitási állandóit összevetve (β -Alaha, $\log \beta = 49,39$; α -Alaha, $\log \beta = 40,16$; GABAha, $\log \beta = 36,72$) a $\beta \gg \alpha > \gamma$ sorrendet állapították meg [78-79].

Egy aminohidroxámsav esetén az 5. és 7. ábrán bemutatott koordinációs módok száma tovább bővíthet, ha az aminosav oldallánca koordinálódásra képes donoratomot/donoratomokat tartalmaz. Ezen aminosavak hidroxámsav származékainak oldategyensúlyi vizsgálatával kapcsolatban más kutatócsoportok munkája mellett számos közlemény született Tanszékünkön is az elmúlt kb. 15 évben [34-36, 71-72, 77, 79-90]. A gyengén koordinálódó oldalláncot magukban foglaló aminosavak közül, pl. a hidroxilcsoportot tartalmazó szerin és treonin, a fenolos-OH csoportot hordozó tirozin vagy a tioéterkötést tartalmazó metionin hidroxámsav származékainak oldategyensúlyi vizsgálata azt az eredményt mutatta, hogy ezen oldalláncbeli donorcsoportoknak nincs mérhető szerepe a koordinációban. A molekulák fémmegkötő sajátságukat tekintve oldatban hasonlóképpen viselkednek, mint az egyszerűbb α -aminohidroxámsavak [36].

Azonban pl. a köztudottan erősen koordinálódó oldalláncot tartalmazó hisztidin hidroxámsav származékánál (Hisha) az oldalláncbeli imidazolcsoportnak meghatározó szerepe mutatkozott, mely csoport sok esetben elsődleges fémionmegkötő lehet pl. a metalloenzimek aktív centrumában helyet foglaló fémion(ok) számára. A hisztidinhidroxámsav oldategyensúlyi vizsgálatát különböző fémionokkal korábban már többen elvégezték [34-36, 80-83, 85-86, 89-90]. Megállapították, hogy az erősen koordinálódó oldallánc jelenléte következtében a

koordinációs módok lehetősége az egyszerűbb aminosavakéhoz képest tovább bővül. A Cu^{2+} -hisztidinhidroxámsav rendszerben képződő komplexek főbb koordinációs módjait a 10. ábra mutatja. Ahogy a 10. ábrán látható, lehetőség nyílik az 5. és 7. ábrán már bemutatott kelátok mellett pl. az amino-N és imidazol-N(3) együttes részvételével kialakuló hisztamin-típusú kelát kialakulására is. Hasonlóan az α - és β -alaninhidroxámsavakhoz azt találták, hogy a koordináció pH ~ 3 -tól a hidroxamát-oxigéneken keresztüli kötődéssel indul a Cu^{2+} -ionnal, de a pH növelésével (pH $\sim 4,5$ -től) a hisztamin-típusú kelát kialakításával (10./a ábra) a koordináció a nitrogén donoratomok fokozatos részvételével válik meghatározóvá.



Nagyobb pH-n (pH ~ 7 felett) az imidazolról a hidroxamát-N-re tevődik át a koordináció, s a 8./b ábrán már bemutatott, jelen esetben hattagú $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{hidr}}]$ -kelát alakul ki, hasonlóan, mint az egyszerű α -alaninhidroxámsavnál. Tovább növelve a pH-t (pH > 9) az egyik koordinált hidroxamát deprotonálódásával „hidroximátó-kelát” kialakulását figyelték meg. (10./c ábra) A pH = 4 - 6 tartományban, kb. 20 %-ban, vegyes koordinációs móddal kétmagvú (dimer) részecskék is megjelennek, melyek képződését ESR mérésekkel is igazolták (10./b ábra) [36].

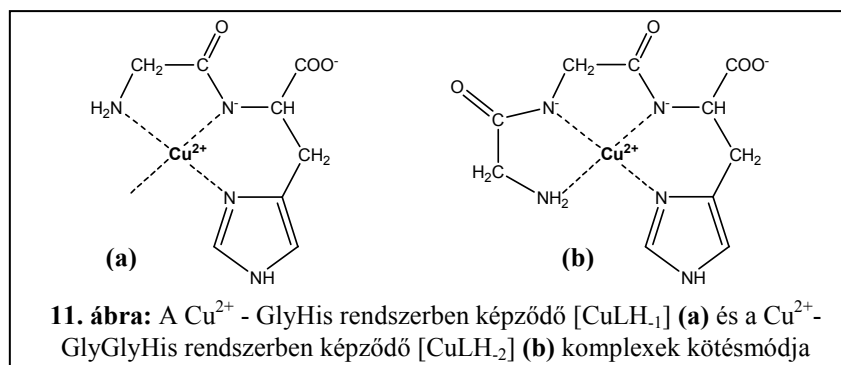
A korábbi munkák eredményei azt mutatták, hogy a donoratom preferenciát tekintve a Ni^{2+} -ion ezen ligandummal másképpen viselkedik, mint a Cu^{2+} -ion és egyértelműen csak a nitrogéneken keresztüli koordináció dominál. A pH ~ 9 -ig képződő oktaéderes mono-, és biszkomplexekben hisztamin-típusú, majd a $[\text{NiL}_2]$ részecskében már a hidroxamát-N kötődésével is kialakuló tridentát, $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{imid}}, \text{N}_{\text{hidr}}]$ -koordinációt támasztanak alá a spektrális paraméterek. Oktaéderesből síknégyszetesbe történő geometriaváltás figyelhető meg pH ~ 9 felett, a kialakuló planáris geometriájú komplexben a 10./c ábrán már bemutatott hidroximátó-kelát képződik [36, 82]. A Zn^{2+} -ionnal ugyan kötési izomerek képződnek, de pH = 6 -ig

Imidazoltartalmú monohidroxámsavak oldatbeli kölcsönhatása Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -ionokkal

a tisztán hidroxamát-oxigéneken keresztüli koordináció igazolt. A pH további növelésével az NMR mérések alátámasztják, hogy a ligandum mind az amino-N, imidazol-N(3) és az egyik hidroxamát-O-jén kötődik a fémionhoz [34, 36].

Az eddig bemutatott koordinációs módok száma még tovább bővíthet, ha a monohidroxámsav molekula oldallánca az amino,- és imidazolcsoportok mellett peptidcsoportot is tartalmaz. A hisztidintartalmú peptidek koordinációs kémiai sajátosságát számos kutatócsoport tanulmányozta/tanulmányozza több aspektus alapján is. A kutatások azt mutatják, hogy a komplexképződés nagyban függ pl. a fémion természetétől, a fémion-ligandum aránytól, a hisztidin-oldalláncok számától és főleg a hisztidinnak a peptiden belül elfoglalt pozíciójától is. Példaként említenénk csak, hogy dipeptideknél az N-terminális hisztidin, illetve oligopeptideknél az 1. helyzetben található hisztidin jelenléte a Cu^{2+} - és Ni^{2+} -komplexeiben hisztaminszerű koordinációt eredményez, de a Ni^{2+} -komplexeiben kialakuló stabilis 6-tagú kelát képes megakadályozni az amid-nitrogének deprotonálódását is [91].

A már 2. helyen hisztidint tartalmazó peptidek esetében lehetőség van (5,6)-tagú csatolt kelátrendszer kialakulására, ez az $[\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}_{\text{imid}}]$ típusú koordinációs móddal válik lehetségessé (11./a ábra). Ezt a GlyHis $[\text{CuLH}_1]$ komplexek esetén sikerült először kimutatni [92], de több röntgendiffrakciós szerkezetvizsgálat is alátámasztja a $[\text{CuLH}_1]$ részecske létezését [93].



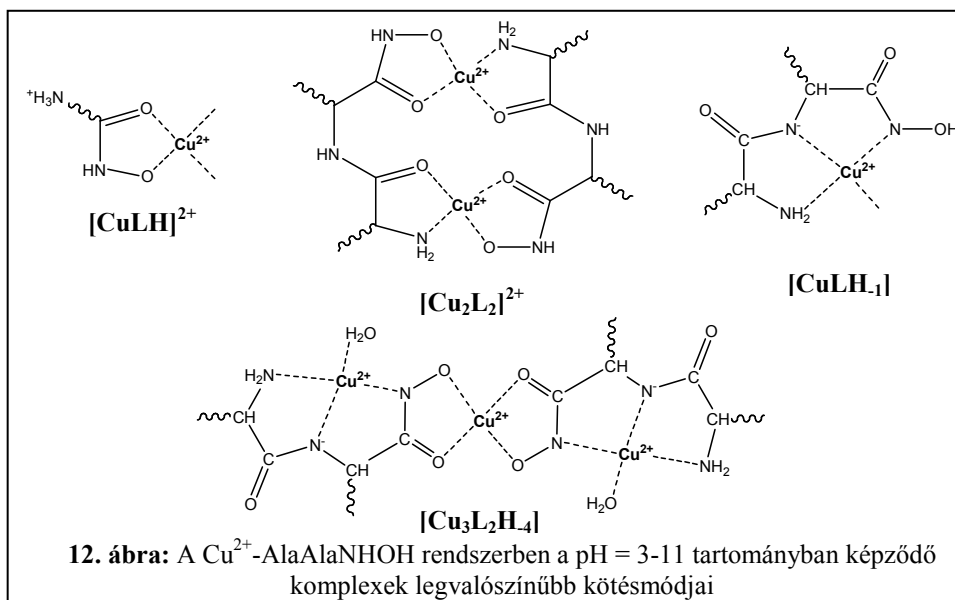
Azon peptideknél, amelyek a hisztidin aminosavat már harmadik helyen tartalmazzák, nagy stabilitású $[\text{MLH}_2]$ részecske jelenlétét írták le Cu^{2+} - és Ni^{2+} -tartalmú rendszereikben. A megvalósuló koordinációs mód, melyet a 11./b ábra szemléltet, $[\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}^-, \text{N}_{\text{imid}}]$, ahol az amid-nitrogének deprotonálódása kooperatív módon megy végbe. Ennek eredményeképpen egyidejűleg képződik a három

kelátgyűrűt (5,5,6) tartalmazó csatolt kelátrendszer, ami kiugróan nagy stabilitást eredményez. Míg a hisztidintartalmú peptidek koordinációs sajátosságait kifejezetten nagyszámú irodalom, köztük több nagyobb összefoglaló közlemény és könyvfejezet is részletezi [94-102], ezzel ellentétben peptidek hidroxámsav származékaira vonatkozóan csak néhány cikket olvashatunk, azok is néhol ellentmondóak [37-38].

Ahogy azt érintőleg már a 2.4 fejezetben említettük, csoportunkban a '90-es évek elején a kollagenáz enzim inhibitoraként szabadalmaztatott ProLeuGlyNHOH vegyület fémmegkötő sajátosságának tanulmányozásával kezdődtek el vizsgálatok peptidhidroxámsavakkal [39]. A kutatómunka oldalláncban koordinálódásra nem képes peptidek, mint az AlaAla, AlaSer és AlaGlyGly molekulák primer és szekunder (*N*-metil) hidroxámsav származékával folytatódtak néhány éve [40-42]. Megállapítást nyert egyrészt, hogy mind az AlaAlaNHOH és AlaSerNHOH ligandumok hasonló fémmegkötő sajátossággal rendelkeznek. Az eredmények egyértelműen mutatták, hogy ezen két ligandummal a vizsgált fémionok közül a Fe^{3+} - és Al^{3+} -ionok kizárólag a hidroxamát [O,O]-keláton kötődnek a ligandumhoz, míg a Zn^{2+} -ion esetén kötési izomerek jelenlétét állapítottak meg [40].

A Ni^{2+} - és Cu^{2+} -ionokat tartalmazó rendszerben, ellentétben a másik három fentebb említett fémionnal, pH ~ 6 felett megtörtént a peptid-NH deprotonálódása, s a ligandum az $[\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}_{\text{hydr}}]$ donoratomjain keresztül koordinálódott a fémionhoz az $[\text{MLH}_{-1}]$ komplexben [40]. Reprezentatív példaként a Cu^{2+} -AlaAlaNHOH rendszerben a pH = 3 - 11 tartományban képződő komplexek legvalószínűbb kötési módjai a 12. ábrán összefoglalva láthatóak. Ha a hidroxamát-N-t a koordinációból kiiktatták, (*N*-Me-származékok) a fémionok ligandumhoz való kötődése a hidroxamát-N helyett a hidroxamát-oxigén részvételével következett be az $[\text{MLH}_{-1}]$ összetételű részecskében az $[\text{NH}_2, \text{N}, \text{O}_{\text{hydr}}]$ donoratomokon keresztül [42].

Imidazoltartalmú monohidroxámsavak oldatbeli kölcsönhatása Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -ionokkal



2.6. Célkitűzések

A kutatócsoportunkban hosszú ideje tanulmányozott fémion-hidroxámsav rendszerek oldategyensúlyi vizsgálatába bekapcsolódva a jelen doktori értekezés keretében célunk volt olyan monohidroxámsavak fémmegkötő sajátosságát tanulmányozni, melyek R_C oldallánca koordinálódásra képes, potenciális donoratomo(ka)t tartalmaznak. A hidroxámsavcsoport mellett ugyanis ezen oldalláncbéli donorcsoportoknak kiemelt szerepe lehet a molekula metalloenzim inhibíciós sajátossága szempontjából, mivel irodalmi eredmények mutatják, hogy az inhibíció szelektivitása, a molekuláris felismerés jelentősen befolyásolható, ha egy hidroxámsav molekula, funkciócsoportja mellett, olyan donorcsoport(ka)t is tartalmaz, melyek másodlagos kölcsönhatások kialakításával az enzim kötőhelyeinek azonosításában segíthetnek. Egy inhibíciós mechanizmus tanulmányozásához bizonyosan hozzájárulhat a fémion-ligandum oldatbeli kölcsönhatások alapos feltérképezése. Ennek eredményeképpen pH-potenciometriás és különféle szerkezetvizsgáló módszerekkel egyrészt tanulmányoztuk, hogy az R_C oldalláncbéli donorcsoportok *helyzete* (α -, β -, γ -helyzet), *típusa* (amino-N és/vagy imidazol-N, peptidcsoport(ok)) illetve *száma* (egy, kettő, három/négy) hogyan befolyásolja a molekula koordinációs sajátosságát egy egyszerű monohidroxámsavéhoz képest.

Jól ismert korábbi irodalmakból, hogy számos esetben nemcsak a hidroxamát-oxigéneknek, hanem a hidroxamát-N-nek is, ha lehetősége van koordinálódni ($R_N = H$ esetén), meghatározó szerep jut a fémionok megkötésében. Ennek eredményeképpen a dolgozatban tanulmányoztuk azt is, hogy az R_N csoport hidrogénről metilcsoportra történő cseréjének következtében a hidroxamát-N koordinációból való kiiktatása milyen hatással van a ligandumok koordinációs sajátosságaira a vizsgált fémionok vonatkozásában.

3. KÍSÉRLETI KÖRÜLMÉNYEK ÉS VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

3.1. Felhasznált vegyszerek és vizsgált ligandumok

A vizsgált ligandumok közül az im-4-Cha, *N*-Me-im-4-Cha, im-4-Aha, *N*-Me- α -Alaha és *N*-Me- β -Alaha Tanszékünkön, illetve a Lisszaboni Egyetemen *Dr. Bátka Dávid* és *Dr. Buglyó Péter* munkája révén került előállításra részben újonnan kialakított eljárás szerint, valamint korábbi irodalmakat felhasználva [34, 103]. Az *N*-Me- β -Alaha analójaként ugyancsak előállítani kívánt *N*-Me-im-4-Aha ligandum szintézisére sok kísérletet tettek, azonban különböző reakcióutakat választva is valamennyi kísérlet sikertelen maradt, egyetlen módszerrel sem kaptak tiszta, stabilis végterméket.

A peptidhidroxámsavakat Olaszországban (Catania) *Prof. Giuseppe Pappalardo* kutatócsoportjában *Chiara A. Damante* és *Giuseppe Di Natale* szintetizálta szilárdfázisú peptidszintézissel.

A hisztidinhidroxámsav (Hisha) ugyan kereskedelmi forgalomban kapható, de a vegyületet reproduktív szintézissel mi is előállítottuk oldategyensúlyi vizsgálatainkhoz [104]. A Hisha további származékait (*N*-Me-Hisha és *Z*-Hisha) jelen doktori munka során újonnan állítottuk elő. A szintézisutak tervezése valamint a reakciókörülmények kidolgozása a Lisszaboni Egyetemen *Prof. M. Amélia Santos* segédletével kezdődött. Az *N*-Me-*Z*-Hisha vegyület előállítását is terveztük, de a szintézis már jelen dolgozat keretein belül idő hiányában nem készült el.

Az oldategyensúlyi vizsgálatokhoz a ligandumokból vízben való oldással olyan törzsoldatokat készítettünk, hogy a titrálandó mintákban a ligandum koncentrációja a 0,002 - 0,004 M tartományban legyen. A pH-potenciometriás titrálásoknál $\sim 0,2$ M HCl és KOH mérőoldatokat használtunk. A sósav mérőoldatot tömény, 36 %(m/m) sósav (Scharlau) hígításával készítettük, míg a KOH-oldat elkészítéséhez Merck gyártmányú szilárd KOH pasztillát használtunk. A mérések során 0,20 M ionerősséget alkalmaztunk, amelyet 1 M-os KCl oldattal állítottunk be.

A fémionok esetében a Tanszéken korábban készített törzsoldatokkal dolgoztunk. A Cu^{2+} - és Ni^{2+} -oldatok az a.lt. tisztaságú szilárd fém-kloridok kétszer

desztillált vízben való oldásával készültek. A Zn^{2+} -oldat a ZnO pontosan ismert mennyiségű ($\sim 0,1 \text{ mol/dm}^3$) sósav oldatban történő oldásával készült. Ezen oldat pontos sósavtartalmát, mely a $0,01 - 0,03 \text{ mol/dm}^3$ koncentráció-tartományba esett, pH-potenciometriásan határoztuk meg. A fém törzsoldatok pontos fémion koncentrációjának meghatározása oxinát formában gravimetriás módszerrel történt [105]. Az ^1H NMR titrálásokhoz 99,8 %-os izotóptisztaságú, az ISOTEC Inc. által előállított D_2O -t, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ -t, DCl - és NaOD -oldatokat használtunk.

3.2. Az új ligandumok előállítása

Minden vegyszer és oldószer a.l.t. minőségű volt és további tisztítás nélkül használtuk fel. Az *L*- α -Hisztidint, az *N*-karbobenziloxi-*L*- α -Hisztidint (*Z*-Hisztidin), a hidroxilamin hidrokloridot, az *O*-benzil-hidroxilamin hidrokloridot, az etilkloroformiátot valamint az *N*-Me-morfolint az Aldrich-től szereztük be. A szintézishez használt oldószereket, metanolt (MeOH), diklórmétánt (CH_2Cl_2), tetrahidrofuránt (THF), etilacetátot (EtOAc), acetonitrilt (MeCN), etanolt (EtOH) és kloroformot (CHCl_3), a Spektrum-3D-től vásároltuk. A MeOH szárítását N_2 atmoszféra alatt magnéziummal végeztük, száraz THF -t szintén N_2 alatt, frissen préselt Na drót és benzofenon segítségével nyertünk [106]. A vegyületeket klasszikus, oldatfázisú laboratóriumi szintézissel állítottuk elő. A reakciók lejátszódását vékonyréteg kromatográfiával követtük, valamint a termékek tisztaságát ^1H NMR spektroszkópiás és ESI-MS mérések mellett pH-potenciometriás titrálással is ellenőriztük.

Z-hisztidinhidroxámsav (*Z*-Hisha)

Z-hisztidin metilészter $\cdot \text{HCl}$ (1)

A vegyület előállításához $2,00 \text{ g}$ ($6,92 \text{ mmol}$) *Z*-hisztidin 30 cm^3 absz. metanolos oldatát száraz HCl -gázzal telítettünk kb. 1 óra n keresztül jeges fürdő alkalmazása mellett. A száraz HCl -gázt csiszolatos gázfejlesztő készülékből, NH_4Cl és tömény kénsav ($98 \text{ \% (m/m)}$) reagáltatásával állítottuk elő. Egy óra eltelte után a reakcióelegyet szárazra pároltuk, a kivált fehér anyagot kevés éterrel mostuk, vákuumban szárítottuk. Kitermelés: $2,00 \text{ g}$, $85 \text{ \%}$

Imidazoltartalmú monohidroxámsavak oldatbeli kölcsönhatása Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -ionokkal

$^1\text{H NMR}$: (360 MHz, DMSO- d_6): δ = 7,96 (s, 1H, imH²), 7,37-7,26 (m, 6H, imH⁵ and -C₆H₅), 4,99 (s, 2H, C₆H₅CH₂-), 4,44 (q, 1H, -CH-), 3,63 (s, 3H, -CH₃), 3,07-3,01 (m, 2H, -CH₂-)

*Z-hisztidinhidroxámsav · HCl (**Z-Hisha**)(2)*

2,00 g (5,89 mmol) (1) terméket 40 cm³ absz. MeOH-ban állandó kevertetés mellett, jégbe hűtve oldottunk. Az oldathoz metanolos KOH oldatot adtunk (az oldat pH ~ 9-re beállítva). Az észter ezen oldatát cseppenként hozzáadagoltuk 0,74 g (10,60 mmol) NH₂OH · HCl-t és 0,86 g (15,32 mmol) KOH pasztillát tartalmazó 30 cm³ lehűtött MeOH-os oldathoz.

A reakcióelegyet további 1 órát jégbe hűtve kevertettük, majd a kivált KCl-ot kiszűrtük, az oldatot felére bepároltuk és egy éjszakára hűtőbe tettük. A kivált fehér kristályos anyagot másnap leszűrtük, kevés absz. Et₂O-rel mostuk, majd vákuumban szárítottuk. MeOH-ból kétszer is átkristályosítottuk. Kitermelés: 350 mg, 18 %

$^1\text{H NMR}$: (360 MHz, DMSO- d_6): δ = 7,61 (s, 1H, imH²), 7,37-7,31 (m, 5H, C₆H₅), 6,83 (s, 1H, imH⁵), 5,00 (s, 2H, C₆H₅CH₂-), 4,22 (q, 1H, -CH-), 2,97-2,90 (m, 2H, -CH₂-)

ESI-TOF MS: [C₁₄H₁₇N₄O₄]⁺: 305,125 m/z

*N-metil-hisztidinhidroxámsav (**N-Me-Hisha**)*

N-metil-O-benzil-Z-hisztidinhidroxámsav (3)

Z-Hisztidint (2,06 g, 7,13 mmol) száraz, frissen gyűjtött THF-ban (50 cm³) oldottunk fel, lehűtöttük és hozzáadtuk az etilkloroformiátot (0,82 cm³, 8,56 mmol) és az N-metil-morfolint (1,02 cm³, 9,27 mmol). Az elegyet 40 percig N₂ atmoszféra alatt jégfürdőben kevertettük. Az N-metil-O-benzil-hidroxilamin · HCl-t (1,85 g, 10,7 mmol) száraz, frissen desztillált MeOH-ban oldottuk (10 cm³), lehűtöttük, majd hozzáadtunk KOH pasztillát (0,60 g, 10,7 mmol) és az elegyet 25 percig szintén N₂ atmoszféra alatt 0 °C-on tartva kevertettük. A két oldatot Schlenk technikával N₂ atmoszféra alatt összeszűrtük. (Ez a technika azért is jó, mert az oldatokból kiváló N-Me-morfolinsót valamint a KCl-ot is el kellett távolítani.) A reakcióelegyet N₂ alatt két óráig 0°C-on, majd további két óráig

szobahőmérsékleten kevertettük. Ezt követően a reakcióelegyet bepároltuk, majd a visszamaradó sárga olajat CHCl_3 : MeOH = 95 : 5 oldószerkelet alkalmazása mellett oszlopkromatográfiás módszerrel tisztítottuk. Kitermelés 550 mg, 20 %, $R_f(\text{termék}) = 0,20$.

$^1\text{H NMR}$: (360 MHz, DMSO-d_6): δ = 8,01 (s, 1H, imH^2), 7,73-7,32 (m, 11H, $-\text{C}_6\text{H}_5$, $-\text{NH}$), 6,95 (s, 1H, imH^5), 5,00-4,93 (m, 5H, $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$ - és $-\text{CH}-$), 3,15 (s, 3H, $-\text{CH}_3$), 2,89-2,77 (m, 2H, $-\text{CH}_2-$)

N-metil-hisztidinhidroxámsav $\cdot\text{HCl}$ (**N-Me-Hisha**)(4)

A (3) termék védőcsoportjainak katalitikus hidrogénezéssel történő eltávolításával állítottuk elő a (4) végterméket. Mivel a védett molekula stabilabb, mint a hidroxámsav származék, ezért a katalitikus hidrogénezést a következő recept alapján minden esetben közvetlenül a ligandum felhasználása előtt végeztük el. A (3) terméket (150 mg, 0,37 mmol) absz. metanol (20 cm^3) és 4-5 csepp cc. sósavoldat elegyében feloldottuk, majd ~ 35 mg Pd/C katalizátort (10 % (m/m)) adva hozzá H_2 gáz túlnyomással, 5 órán keresztül hidrogéneztük. A reakcióelegyből a katalizátort kettős redősszűrővel kiszűrtük, az oldatot vákuumban (40 °C) szárazra pároltuk. A kapott olajos terméket éterrel mostuk, vákuumban szárítottuk. Szárítás után fehér, kristályos, finom eloszlású végterméket kaptunk. Kitermelés: 80 mg, 90%

$^1\text{H NMR}$: (360 MHz, D_2O): δ = 8,55 (s, 1H, imH^2), 7,35 (s, 1H, imH^5), 4,45 (q, 1H, $-\text{CH}-$), 3,45 (s, 3H, $-\text{CH}_3$), 3,06-3,02 (m, 2H, $-\text{CH}_2-$)

ESI-TOF MS: $[\text{C}_7\text{H}_{13}\text{N}_4\text{O}_2]^+$: 185,102 m/z

3.3. A vizsgálati módszerek elvi alapjai, alkalmazott kísérleti körülmények

3.3.1. pH-potenciometria

Vizsgálatainkat valamennyi tanulmányozott rendszer esetén pH-potenciometriás mérésekkel indítottuk, mely az oldatfázisban lejátszódó komplexképződési folyamatok egyensúlyi vizsgálatának legáltalánosabb kísérleti módszere. Alkalmazhatóságának feltétele, hogy a ligandum és a fémion közötti komplexképződés pH-effektussal járjon. Mivel a ligandum gyenge bázisnak

Imidazoltartalmú monohidroxámsavak oldatbeli kölcsönhatása Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -ionokkal

tekinthető, ezért a komplexképződés kompetitív reakciót jelent a H^+ -ion és a fémion között. Ennek eredményeképpen a pH méréséből következtetni lehet a képződő komplex(ek) stabilitására. A komplexképződésre az alábbi általános egyensúly írható fel:



M : fémion, L : teljesen deprotonált ligandum, H : proton

p, q, r : sztöchiometriai együtthatók

(*A részecskék töltését az egyszerűbb kezelhetőség miatt nem tüntettük fel.)

A pH-potenciometriás vizsgálatok célja, hogy a képződő komplexek összetételét és stabilitási állandóit meghatározzuk. A részecskék stabilitási szorzata a következő általános egyenlettel írható fel:

$$\beta_{pqr} = \frac{[\text{M}_p\text{L}_q\text{H}_r]}{[\text{M}]^p[\text{L}]^q[\text{H}]^r} \quad (2)$$

A kísérleti adatokból a fémkomplexekre meghatározott stabilitási szorzatokat a PSEQUAD nevű számítógépes programmal számítottuk ki [107]. Az értékelések során komponensként szerepeltek: a fémion (M), a teljesen deprotonált ligandum (L) és a proton (H). A mintához adott mérőoldat térfogat – pH kísérleti adatpárokon kívül bemenő adatként meg kell adnunk az asszociátumok (különböző protonáltsági fokú ligandum, $\text{M}_p\text{L}_q\text{H}_r$ fémkomplexek és hidroxokomplexek) számát, az asszociátumok összetételét, a komponensek kiindulási teljes koncentrációját, a minta kiindulási térfogatát, az ismert és az ismeretlen (közelítő) stabilitási szorzatokat, a mérőoldat koncentrációját, a vízionszorzatot és a műszer által kijelzett pH-értéknek egyensúlyi koncentrációval kifejezett pH-értékre történő átszámításához szükséges un. Irving-féle korrekciós tényezőt [108]. A program a keresett stabilitási szorzatokat az M, L és H komponensekre felírt anyagmérlegek (3-5 egyenletek) megoldásával adja, ahol n a rendszerben képződő asszociátumok száma. A program a kiindulási adatok figyelembevételével, Newton-Raphson iterációval végzi a közelítést mindaddig, míg a mérőoldatra nézve a $\Sigma(V_{\text{mért}} - V_{\text{számolt}})^2$ értéke minimumot ad (V: a hozzáadott mérőoldat térfogata). Valamennyi

megadott pH-értéknél kiszámolja az összes képződő részecske egyensúlyi koncentrációját és az adott pontokhoz tartozó standard deviáció értékét.

$$C_H = [H] + \sum_{i=1}^n r_i \beta_{pqr} [M]_i^p [L]_i^q [H]_i^r \quad (3)$$

$$C_M = [M] + \sum_{i=1}^n p_i \beta_{pqr} [M]_i^p [L]_i^q [H]_i^r \quad (4)$$

$$C_L = [L] + \sum_{i=1}^n q_i \beta_{pqr} [M]_i^p [L]_i^q [H]_i^r \quad (5)$$

Az iterációsorozat végén megadja a finomított stabilitási szorzatokat, a kísérleti és a számított titrálási görbék pontjaihoz tartozó $|V_{\text{mért}} - V_{\text{számolt}}|$ értékek átlagát (illesztési paraméter), és a kiválasztott komponensekre vonatkozóan kirajzolja az asszociátumok koncentrációeloszlási görbáját a pH függvényében. A dolgozatban különböző táblázatokban feltüntetett stabilitási állandók összesítésekor a zárójelben szereplő szám az állandó utolsó számjegyével azonos nagyságrend szerinti standard deviáció értékét jelöli. A feltételezett asszociátumok egy adott összességét nevezzük a rendszer egy modelljének. Az a modell fogadható el, mely kémiai megfontolások alapján értelmezhető, és amelynél az illesztési paraméter a legkisebb. A dolgozatban szereplő koncentrációeloszlási görbéket a SED program Windows alatt futó változatával, a MEDUSA-val szerkesztettük meg a képződő komplexek összetétele és stabilitási állandója, valamint a komponensek koncentrációjának ismeretében [109]. A pH-potenciometriás mérésekhez Radiometer PHM 84 illetve Radiometer PHM 93 pH-mérőt, Metrohm 715 Dosimat típusú automata burettát és Metrohm 6.0234.100 kombinált üvegelektrodát használtunk. A mérőrendszer hitelesítése 0,0500 mol/dm³ koncentrációjú KH-ftalát oldatra (t = 25,0 °C, pH = 4,008), valamint a vízionszorzat (I = 0,20 mol/dm³ (KCl), t = 25,0 °C, pK_w = 13,76 ± 0,01) értékére történt. Oldategyensúlyi vizsgálatainkat döntően vizes közegben végeztük, de két ligandum esetében a fémionokkal képződő komplexek viszonylag rossz vízdékonysága valamint a ligandum apoláris Z-védőcsoportja miatt méréseinket 50 : 50 %(m/m) DMSO/H₂O oldószerkeletben is megismételtük. Ezen két ligandum disszociációs állandóit az oldószerkelet mellett vízben is meghatároztuk az eredmények jobb összevethetősége érdekében. Az oldószerkelet egyes vizsgálatainknál a rendszer kalibrálása az irodalomban rögzítettek alapján történt [110]. Nevezetesen, a

Imidazoltartalmú monohidroxámsavak oldatbeli kölcsönhatása Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -ionokkal

kalibrálás a vizes közegbeli mérésekhez hasonlóan $0,0500 \text{ mol/dm}^3$ koncentrációjú vizes KH-ftalát oldatra ($t = 25,0 \text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH} = 4,008$) történt. A reprodukálható eredmények biztosítása érdekében az elektródot a mérések előtt 3-4 napig az alkalmazott oldószerkeletben kondicionáltattunk. Az 50 : 50%(m/m) DMSO/ H_2O oldószerkeletben a meghatározott vízionszorzat $\text{pK}_w = 15,41 \pm 0,01$ értéknek adódott.

Az egyensúlyi méréseknél a minták hőmérséklete $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$ volt, melyet ultratermosztáttal tartottunk állandó értéken. A méréseket argon atmoszféra alatt végeztük, ahol a gáz a mintán átbuborékolva egyben a kevertetést is biztosította. A pH-potenciometriás méréseket vizes közegben a lehetséges $\text{pH} = 2,0 - 11,0$, míg oldószerkelet esetén $\text{pH} \sim 13,50$ -ig végeztük. Csapadékképződésnél pH-tól függetlenül minden esetben abbahagytuk a titrálást. A mérésekhez elkészített minták $4,00$ és $5,00 \text{ cm}^3$ térfogatúak voltak, a ligandum mennyisége a mintákban $0,0015 - 0,004 \text{ mol/dm}^3$ között változott a rendelkezésünkre álló vegyületek mennyiségétől és oldékonyságától függően. A molekulák savi disszociációs állandóit külön titrálásokban, csak a ligandumot tartalmazó mintákban határoztuk meg. A kiértékeléshez a SUPERQUAD nevű programot használtuk, amely a ligandum savi disszociációs állandói mellett a kiindulási ligandum- és protonkoncentrációk finomítására is képes [111]. Minden esetben az alkalmazott $\sim 0,2 \text{ M}$ HCl és KOH mérőoldatok pontos koncentráció értékeit szintén pH-potenciometriás titrálásokkal határoztuk meg Gran módszerét alkalmazva [112]. A komplexképződés tanulmányozása során a fémion-ligandum arány 1:1 és 1:4 között változott, a peptidhidroxámsavak esetén fémfelesleg alkalmazása mellett is végeztünk titrálásokat, ahol 1,5:1 arányt állítottunk be.

A pH-potenciometriás mérésekkel nyert információk alapvető fontosságúak a komplexkémiailag vizsgálatokban, de a kötőmódokra bizonyíték nem nyerhető. Előfordulhat az is, hogy egy rendszer több, kémiaiilag reális modellel is közelítőleg egyformán jól leírható, vagy két részecske képződése azonos pH-effektussal jár és ezzel a módszerrel egymástól nem különböztethetők meg. Mivel a meghatározott stabilitási állandók nem adnak felvilágosítást arról, hogy a képződő komplexekben milyen kötőmód valósul meg, milyen a komplex geometriája, ezért oldategyensúlyi jellemzéshez más, szerkezeti információkat nyújtó vizsgálatok is szükségesek (pl. UV-látható spektrofotometria, CD, NMR vagy ESR spektroszkópia).

3.3.2. UV-látható spektrofotometria

UV-látható spektrofotometriás méréseket a Cu^{2+} - és Ni^{2+} -ionokat tartalmazó rendszerekben végeztünk. Ezen fémionoknak az elektronszerkezetükből adódóan jellegzetes, d–d átmenetekhez tartozó elnyelésük van elsősorban a látható hullámhossztartományban. Az átlagos környezeti szabálynak megfelelően egy adott fémion esetén az elektronabszorpciós spektrum elnyelési maximuma (λ_{max}) alapvetően függ a fémionhoz koordináló donoratomok típusától és a komplex geometriájától [95]. Ennek eredményeképpen a kapott spektrumok elemzésével a képződött komplexek szerkezetére, geometriájára, valamint a koordinálódó donoratomok számára és minőségére is következtethetünk.

A tetragonálisan torzult oktaéderes geometriájú **Cu^{2+} -komplexek** esetén az ${}^2\text{E}_g$ alap- és a ${}^2\text{T}_{2g}$ gerjesztett állapotú energiaszintek felhasadnak – a gyenge és az erős terű ligandumokkal különbözőképpen, de mind a két esetben négyfelé –, és az így létrejött szintek között háromféle d–d átmenet lehetséges. Ezek az átmenetek gyakran egyetlen sávva olvadnak össze, és az energiájukat, ill. az intenzitásukat nagyban befolyásolja a koordinált donoratomok száma és minősége. Abban az esetben, ha nincs számottevő axiális koordináció, a Cu^{2+} -komplexek várható abszorpciós maximuma a Sigel és Martin által felírt empirikus egyenlettel (6. egyenlet) [95] számolható. A számoláshoz szükséges donoratomok ún. hozzájárulási tényezőit (x_i) számos aminosav és peptid, nagyszámú spektrofotometriás mérései alapján határozták meg [95, 102], mindemellett a hidroxamát-donorok x_i értékeinek meghatározására korábbi tanszéki vizsgálatok eredményei nyújtanak információt [42, 113].

$x_i = 0,456 (\text{NH}_2)$ $0,434 (\text{N}_{\text{imid}})$ $0,346 (\text{COO}^-)$ $0,384 (\text{O}_{\text{hydr}}^-)$ $0,294 (\text{CO}/\text{H}_2\text{O})$ $0,470 (\text{N}_{\text{hydr}}^-)$ $0,494 (\text{N}_{\text{amid}}^-)$	$\lambda_{\text{max}} = \frac{1000}{\sum_{i=1}^4 x_i} [\text{nm}]$	(6)
--	--	-----

Az egyenlet alapján a vizes oldatban jelenlévő $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ ion négy ekvatoriális vízmolekulájának oxigén- vagy nitrogéndonorokkal történő szubsztitúciója az abszorpciós maximumot a kisebb hullámhosszak felé tolja el. Ez az effektus különösen nitrogéndonoroknál jelentős. A kvantitatív összefüggés megadását

azonban nehezíti, hogy az effektus nagysága a donoratom kémiai természetén kívül függ a kelátgyűrű méretétől, valamint a ligandumhoz kapcsolódó, de a koordinációban részt nem vevő szubsztituensektől is. Továbbá, ezek az összefüggések nem alkalmazhatók abban az esetben, ha axiális koordináció valósul meg, mivel az axiális koordináció a λ_{max} értékének jelentős eltolódását eredményezi a nagyobb hullámhosszak felé (ún. vörös eltolódás) [114]. A Cu^{2+} -komplexek esetén további információt szolgáltatathat, a látható tartományban megjelenő d-d sáv mellett, egy $\lambda_{\text{max}} = 350\text{-}380$ nm hullámhossztartományban a hidroxamát-oxigének koordinációjához rendelhető töltésátviteli sáv megjelenése is [30-31,36, 40].

A **Ni^{2+} -komplexek** két leggyakoribb koordinációs száma 6 és 4. A 6-os koordinációs számú, oktaéderes komplexekhez három, viszonylag kis intenzitású d-d átmenet tartozik ($\epsilon_{\text{max}} < 30$ dm³/mol·cm), a 770 - 1430 nm ($^3\text{A}_2 \rightarrow ^3\text{T}_2$), az 500 - 910 nm ($^3\text{A}_2 \rightarrow ^3\text{T}_1$ (F)) és a 370 - 520 nm ($^3\text{A}_2 \rightarrow ^3\text{T}_2$ (P)) hullámhossz tartományokban. Ezen sávok mellett létezik egy még kisebb intenzitású, spin tiltott ($^3\text{A}_2 \rightarrow ^1\text{E}$) átmenet is, amely általában csak vállként jelenik meg valamelyik csúcson. A 4-es koordinációs számú, tetraéderes Ni^{2+} -komplexek spektrumában már nagyobb intenzitású ($\epsilon_{\text{max}} \sim 10^2 - 10^3$ dm³/mol·cm) sávok találhatók az 500 - 900 nm hullámhossznál. A szintén 4-es koordinációs számú, diamágneses sajátságú, síknégyszetes geometriájú komplexek, melyek könnyen alakulnak ki más geometriájú komplexekből, és gyakran képződnek különösen erős terű ligandumokkal való kölcsönhatásban (pl. amid-nitrogént tartalmazó peptidekkel), 400–550 nm körül adnak egy elég intenzív sávot ($\epsilon_{\text{max}} \sim 50 - 500$ dm³/mol·cm). Mindemellett egy második, még intenzívebb sáv található 430 nm alatt, amely gyakran töltésátviteli eredetű [1, 115].

Az UV-látható spektrofotometriás mérések *Perkin Elmer Lambda 25* típusú kétsugaras spektrofotométeren történtek a 250–900 nm hullámhossz tartományban. A mérésekhez minden esetben 1 cm úthosszú kvarcküvetákat használtunk. A spektrumokat Cu^{2+} - és Ni^{2+} -komplexek esetén döntően 1:1 fémion-ligandum arányoknál rögzítettük, de ahol pl. biszkomplex képződésével illetve fémfelesleg megkötésével lehetett számolni a méréseinket 1:2 - 1:4 és 1,5:1 arányoknál is elvégeztük. A titrálós módszerrel kivitelezett, különböző pH-n felvett spektrumok segítségével a képződő komplexek összetétele, ill. a stabilitási szorzatuk is számolható. Ezeket a számításokat is a PSEQUAD programmal végeztük [107], ahol a pH-potenciometriánál felsoroltak mellett további bemenő adatként szerepel

a rendszerben képződő színes részecskék száma, valamint a mintához adott mérőoldat térfogat függvényében a különböző hullámhosszakon mért abszorbanca értékeket adjuk meg. Az eredmények között a program az egyes színes részecskék moláris abszorbanciáit is megadja a vizsgált hullámhosszakon.

3.3.3. Cirkuláris dikroizmus (CD) spektroszkópia

A CD spektroszkópia a polarizált fény és egy optikailag aktív anyag kölcsönhatásán alapuló spektroszkópai módszer. A síkban polarizált fény egy balra és egy jobbra cirkulárisan polarizált fénysugár összegének tekinthető. Az optikailag aktív anyagok, mint az aminosavak és a peptidek, a síkban polarizált fényre nézve különböző törésmutatójúak. Egy ilyen közegen a polarizált fényt átbocsátva, a fény polarizációs síkja elfordul. Az elfordulás mértéke a törésmutatón kívül függ az oldószertől, a hőmérséklettől, valamint a mérés hullámhosszától. A síkban polarizált fény két összetevőjének különböző abszorpcióját cirkuláris dikroizmusnak, vagy felfedezője után Cotton-effektusnak nevezik. A cirkuláris dikroizmus görbét (CD görbe) akkor kapjuk, ha a kétféle fénysugár abszorpciójának különbségét ($\Delta\epsilon = \epsilon_{\text{bal}} - \epsilon_{\text{jobb}}$) a hullámhossz (λ) függvényében ábrázoljuk. A CD görbe maximumai, illetve minimumai az elektrongerjesztési spektrum maximumainál, illetve ahhoz igen közeli hullámhosszaknál jelentkeznek. A CD spektroszkópia előnye az elektrongerjesztési spektrummal szemben, hogy sávjai viszonylag keskeny Gauss-görbék, és közöttük jóval ritkábban fordul elő átfedés, emellett a Cotton-effektus előjele is szolgáltat további információkat a komplex szerkezetéről [116]. Optikailag aktívak az úgynevezett diszimmetrikus molekulák, melyek másodrendű szimmetriaelemet (tükrősíkot (σ), inverziós centrumot (i) vagy tükrözéssel forgatást (S)) nem tartalmaznak. A fémkomplexek optikai aktivitását okozhatja a ligandum saját – a komplexképződés előtt is meglévő – aszimmetriája, vagy a koordináció során képződő komplex aszimmetriája. Utóbbi a központi atom körüli aszimmetrikus elrendeződés következménye lehet. Ha a komplex optikai aktivitása a komplexképződés alatt alakul ki, vagyis a ligandum maga optikailag inaktív volt, akkor a komplexképződéssel a két enantiomer racém elegyét kapjuk, melyekhez ellentétes előjelű, azonos nagyságú Cotton-effektus tartozik, amik így kioltják egymást.

Imidazoltartalmú monohidroxámsavak oldatbeli kölcsönhatása Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -ionokkal

Ezeket az enantiomerpárokat csak kinetikailag inert komplexek esetében lehet elválasztani és vizsgálni.

A cirkuláris dikroizmus spektroszkópia pl. Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Pd^{2+} -peptidkomplexek szerkezetének a felderítésében széles körben használt módszer [117-118]. Az egyszerű di- és tripeptidkomplexekkel kapcsolatban számos irodalmi adat áll rendelkezésünkre, melyekből levonható legfontosabb következtetéseket Sigel és Martin foglalta össze [95]. A CD spektroszkópiás méréseket döntően a peptidhidroxámsavak és a hisztidinhidroxámsav származékainál végeztünk, a Cu^{2+} - és Ni^{2+} -ionok esetén. A méréseket a Debreceni Egyetem Szerves Kémiai Tanszékén JASCO-810 spektrométeren regisztráltuk, 290–800 nm hullámhossz tartományban, szobahőmérsékleten, 1 cm úthosszúságú küvetát használva. A mintákban a ligandum koncentrációja $2 \cdot 10^{-3}$ - $3 \cdot 10^{-3}$ mol/dm³, a fémion-ligandum arány 1:1 és 1:2 volt, de a peptidhidroxámsavak esetén 1,5:1 aránynál is rögzítettünk spektrumokat. A kapott CD görbék elemzését egyrészt a gyártó cég által biztosított kezelő- és kiértékelő programmal végeztük, másrészt a PSEQUAD program segítségével több esetben is az egyes komplexek egyedi spektrumát is meghatároztuk [107].

3.3.4. Elektronspin-rezonancia (ESR) spektroszkópia

Az elektrospin-rezonancia spektroszkópia módszere olyan részecskék tanulmányozására alkalmas, amelyek párosítatlan elektront tartalmaznak, azaz paramágneses sajátságúak. A spektroszkópia másik neve, az elektron paramágneses rezonancia (EPR) is erre utal. A Cu^{2+} -ion paramágneses volta miatt ez a módszer kiválóan alkalmas komplexei vizsgálatára. Az ESR spektrumok jellemzői közé tartozik a hiperfinom szerkezet. A szerkezet létrejöttének oka, hogy az a mágneses tér, amely a magok mágneses momentumától származik, hatással van a párosítatlan elektronok mágneses momentumára. Általánosan megállapítható, hogy egy I spinszámú mag a spektrumban $(2I + 1)$ számú, azonos intenzitású finomszerkezetet hoz létre. A rézionra az $I = 3/2$, ami azt jelenti, hogy a Cu^{2+} -komplexek esetén 4 vonalból áll a hiperfinom szerkezet. Az ESR spektrumok hiperfinom szerkezete alapján a komplexek szerkezeti változásaira lehet következtetni. Az ESR spektrális paramétereket ($g_{\parallel}$, $A_{\parallel}$) a (7) és (8) összefüggések alapján számolhatjuk ki, ezek

összevetése más ismert koordinációjú komplex paramétereivel segítséget nyújthat a koordinációs mód és az esetleges térbeli szerkezet változásainak felderítésében.

$$g_{\parallel} = g_{\parallel}^0 \frac{H_0}{H_{\parallel}} \quad (7)$$

$$A_{\parallel} [\text{cm}^{-1}] = \frac{g_{\parallel} \cdot \mu_B \cdot a_{\parallel}}{h \cdot c} \quad (8)$$

ahol,
 $H_{\parallel}$: a mintában mért mágneses térerő [Gauss]
 H_0 : a standardra kapott mágneses térerő [Gauss]
 $a_{\parallel}$: parallel csatolási állandó [Gauss]
 μ_B : Bohr-magneton ($9,27400899 \cdot 10^{-24} \text{ J} \cdot \text{T}^{-1}$)
 h : Planck-állandó ($6,625 \cdot 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}^{-1}$)
 c : a fénysebesség ($2,99792458 \cdot 10^{10} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$)

Az im-4-Cha, *N*-Me-im-4-Cha, im-4-Aha valamint a peptidhidroxámsavak ESR méréseit, a kutatócsoportunkkal szakmai együttműködésben álló Sassari egyetemen, Olaszországban *Dr. Daniele Sanna* végezte. Varian E-9, illetve Bruker ER 200D spektrométerek segítségével vette fel az ESR spektrumokat, etilén-glikol hozzáadása után 120 K-re lefagyasztott mintákban. A fémtörzsoldat $^{63}\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ -ot tartalmazott. A minták rézkoncentrációja $0,005 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, a fémion-ligandum arány minden esetben 1:1 volt, de a peptidhidroxámsavak esetén fémfeleslegnél is készültek mérések. Külső standardként difenil-pikril-hidrazint használt, melyre $g_{\parallel}^0$ értéke 2,0028.

Az *N*-Me-hisztidinhidroxámsav ESR méréseit az MTA Kémiai Kutatóközpontjának Szerkezeti Kémiai Intézetében *Dr. Nagy Nóra Veronika* segítségével egy Bruker Elexsys X-sávú ESR spektrométeren végeztük. A spektrumokat cseppfolyós nitrogént tartalmazó Dewar edényben, 77 K-re lefagyasztott mintákban rögzítettük (paraméterek: moduláció: 5G, modulációs frekvencia: 100,0 kHz, teljesítmény: 12 mW). A vizes közegbeli mintákhoz a víz kikristályosodását elkerülve 1/5 térfogatarányban metanolt adtunk. A méréseket ekvimoláris oldatban ($c_{\text{Cu}^{2+}} = 2,2 \text{ mM}$, $c_{\text{lig}} = 2,35 \text{ mM}$) és ligandumfelesleg ($c_{\text{Cu}^{2+}} =$

Imidazoltartalmú monohidroxámsavak oldatbeli kölcsönhatása Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -ionokkal

2,0 mM, $c_{\text{lig}} = 10,0$ mM) alkalmazása mellett, különböző pH értékeken rögzítettük. A kapott spektrumokat az „EPR” programmal értékeltük ki [119].

3.3.5. Elektro-spray ionizációs tömegspektrometria (ESI-TOF-MS)

Az elektro-spray ionizációs tömegspektrometria (ESI-MS) során a lágy ionizációs technika (elektro-spray ionizáció = ESI) lehetővé teszi, hogy tömegspektrometriával vizsgáljunk, ezáltal szerkezeti információkat nyerjünk olyan komplexekre, amelyek oldatfázisban léteznek [120]. Az ESI-MS körülmények között a fragmentáció csak igen kismértékű, így lehetséges a komplexhez rendelhető direkt jel észlelése. A komplexek észlelését befolyásolja azok töltése, ezért pozitív és negatív módban is elvégezhető a mérés. A megfelelő jel beazonosítása minden esetben a megfelelő töltés/tömeg arány (m/z arány) és a jellemző izotópeloszlás alapján történt. Az újonnan előállított két hisztidinhidroxámsav származék azonosítása, valamint néhány esetben a rendszerekben képződő komplexek oldatbeli létezésének azonosítása ilyen módszer segítségével is megtörtént. A méréseket a Debreceni Egyetem Alkalmazott Kémiai Tanszékén *Dr. Nagy Lajos* végezte. A méréseinkhez $5 \cdot 10^{-4}$ - $1 \cdot 10^{-3}$ M közötti ligandum koncentrációt állítottunk be, 1:1 és 1:2 fémion-ligandum arányok alkalmazása mellett. A kísérletekhez *Bruker Biotof II ESI-TOF* készüléket, Cole Palmer 74900 pumpát használtunk és 2 $\mu\text{l}/\text{min}$ áramlási sebességnél mértünk. A szárító gáz (N_2) hőmérsékletét 100 °C-on tartottuk, a porlasztógáz (N_2) nyomása 30 psi volt. A kapillárisra kapcsolt feszültség 4500 V, 120 V, 40 V és 30 V volt. Az m/z skála hitelesítése angiotensin II és leucin-enkephalin peptidekkel történt. Az adatgyűjtést BioTOF v 2.2, míg az adatfeldolgozást XmassBioTOF v 6.0.0 szoftver végezte.

3.3.6. ^1H NMR spektroszkópia

Az újonnan előállított hisztidinhidroxámsav származékainak szintézisekor valamennyi esetben felvettük a ligandumok ^1H NMR spektrumait azonosítás, illetve a tisztaság ellenőrzése céljából. Mindemellett az NMR spektroszkópia kiválóan alkalmas a ligandumok protonálódási folyamatainak és a fémkomplexek

oldatbeli szerkezetének vizsgálatára is. Ezen spektroszkópai módszert a Zn^{2+} -komplexek tanulmányozásához alkalmaztuk. A vizsgált ligandumok egyazon mintájának különböző pH^* értékeken felvett spektrumaival információt kaphatunk a deprotonálódási folyamatokra, majd a diamágneses Zn^{2+} -ion jelenlétében regisztrált spektrumok révén a komplexképződési folyamatokra. Bár a gyors ligandumcsere miatt a szabad és a komplexben kötött ligandum jelei nem különülnek el egymástól, így átlagjeleket kapunk. Mindemellett a Zn^{2+} -ion jelenlétében és távollétében a koordinálódó donoratomok melletti nem labilis protonokra jellemző kémiai eltolódás értékek változásaiból következtethetünk a ligandum fémionhoz való koordinálódására. A mérések során vizes közegbeli pufferre kalibrált pH-mérő által kijelzett értékek a D_2O oldatokban pH^* értékeknek felelnek meg. A minták elkészítésekor a ligandumokat és a KCl sót D_2O -ban oldottuk, a fémiont pedig 0,1 M koncentrációjú vizes oldatuk formájában használtuk. A spektrumok felvételéhez hasonló koncentrációjú és fémion-ligandum arányú oldatokat készítettünk, mint amit a pH-potenciometriánál alkalmaztunk. Az oldatok pH^* értékeit DCl- és NaOD-oldatok segítségével állítottuk be a kívánt értékekre, amelyek mérése a pH-potenciometriánál leírt mérőműszerekkel és módszerrel történt. A pH^* értékek pH skálára az irodalomból vett módszer segítségével a (9) egyenlettel számolhatóak át [121].

$$\text{pH} = 0,930 \text{pH}^* + 0,40 \quad (9)$$

A ^1H NMR spektrumok felvétele Bruker AM360 típusú FT-NMR készüléken történt. A minták 99,8 % izotóptisztaságú D_2O , illetve DMSO- d_6 oldószerrel készültek. Referenciaként nátrium-3-trimetil-szilil-propánszulfonátot (TSP) vagy nátrium-2,2-dimetil-2-silapentán-5-szulfonsavat (DSS) $\delta = 0$ ppm) használtunk. A spektrumok kiértékelését a WIN-NMR 960901 verziószámú Bruker szoftverrel végeztük.

4. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

4.1. A vizsgált ligandumok sav-bázis sajátosságai

A tanulmányozott ligandumok protonált formáinak szerkezeti képlete, az oldalláncban növekvő számú donorcsoportok sorrendjében csoportosítva, az 1. ábrán látható. A ligandumok savi disszociációs állandóit minden esetben pH-potenciometriás titrálással határoztuk meg, a kapott értékeket az 1. és 2. táblázatokban foglaltuk össze. A disszociációs folyamatok alaposabb tanulmányozása érdekében, ahol arra lehetőség nyílt, ^1H NMR mérésekkel egészítettünk ki a ligandumok sav-bázis sajátosságainak pH-potenciometriás vizsgálatát.

Azok a protonált formák, melyek a hidroxámsavcsoport mellett az R_C oldalláncban egy további koordinálódásra képes donoratomot tartalmaznak (ammónium- vagy imidazóliumcsoport) két disszociálabilis protont hordoznak, melyek közül az egyik az oldalláncbeli donorcsoporton, míg a másik a hidroxámsavcsoporton található. Az oldalláncban két (ammónium- és imidazóliumcsoport), illetve három/négy (ammónium-, imidazólium- és peptid-csoportok) fémionhoz lehetségesen kötődő funkcióscsoportot magukban foglaló tanulmányozott, teljesen protonált molekulák három proton disszociációjára képesek.

Az 1. táblázatban az amino- és imidazolhidroxámsavak vizes közegbeli állandói szerepelnek, de két ligandumnál, melyeknél a komplexek esetén oldékonysági problémák léptek fel mind a vízben, mind a DMSO/ H_2O oldószerkeletben meghatározott értékek is feltüntetésre kerültek.

A 2. táblázatban a peptidhidroxámsavak disszociációs állandói találhatók, mely értékeket pH-potenciometriás titrálás mellett ^1H NMR titrálásokkal is meghatároztunk. A HisAlaN(Me)OH ligandum esetén a rendelkezésünkre álló mindössze néhány mg anyag miatt az ^1H NMR titrálások nem készülhettek el.

1. táblázat: Az imidazol- és aminosavak savi disszociációs állandói (pK_s),
 $t = 25\text{ }^\circ\text{C}$, $I = 0,20\text{ M}$ (KCl)
 (a zárójelben lévő számok a standard deviáció értékeit jelölik)¹

ligandum	oldószer	pK_{s1}	pK_{s2}	pK_{s3}
<i>N</i> -Me- α -Alaha	H ₂ O	7,61(2)	9,25(1)	-
<i>N</i> -Me- β -Alaha	H ₂ O	8,12(1)	9,88(1)	-
im-4-Cha	H ₂ O	3,76(3)	8,82(1)	-
	DMSO/H ₂ O	2,59(2)	9,92(4)	-
<i>N</i> -Me-im-4-Cha	H ₂ O	5,06(3)	8,57(2)	-
im-4-Aha	H ₂ O	6,17(1)	9,05(2)	-
Z-Hisha	H ₂ O	6,42(1)	8,80(1)	-
	DMSO/H ₂ O	5,62(1)	9,81(1)	-
Hisha	H ₂ O	5,35(1)	7,09(1)	9,03(1)
<i>N</i> -Me-Hisha	H ₂ O	5,39(1)	7,37(1)	8,94(1)

2. táblázat: A peptidhidroxámsavak savi disszociációs állandói (pK_s),
 $t = 25\text{ }^\circ\text{C}$, $I = 0,20\text{ M}$ (KCl)

ligandum	módszer	pK_{s1}	pK_{s2}	pK_{s3}
AlaHisNHOH	pH-metria	6,11(1)	7,72(1)	8,82(1)
	¹ H NMR	6,4(1)	7,8(1)	8,7(1)
HisAlaNHOH	pH-metria	5,56(1)	7,55(1)	9,02(1)
	¹ H NMR	5,3(1)	7,3(1)	9,2(1)
HisAlaN(Me)OH	pH-metria	5,47(2)	7,32(1)	8,86(2)
	¹ H NMR	-	-	-
AlaAlaHisNHOH	pH-metria	6,31(1)	7,82(1)	8,84(1)
	¹ H NMR	6,3(1)	7,7(1)	8,8(1)

Az 1. és 2. táblázat adatait elemezve a következő főbb megállapításokat tehetjük a ligandumok sav-bázis sajátságaira vonatkozóan:

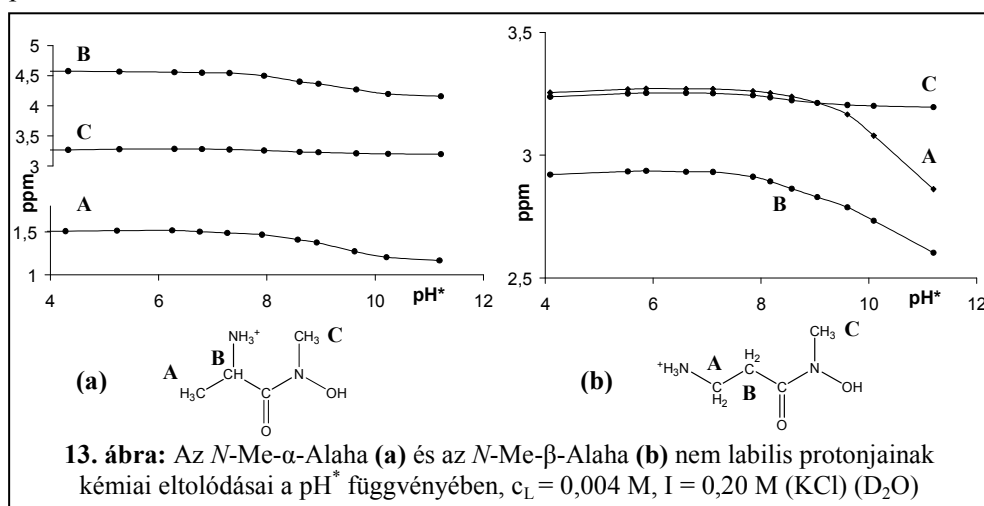
(1) Az α -Alaha és β -Alaha ligandumoknál ismert (2.4 fejezet), hogy az ammónium- és hidroxámsavcsoportok átfedő folyamatban deprotonálódnak [33-34, 36]. Kérdés, hogy, mit okoz a metilcsoport belépése az általunk tanulmányozott szekunder származékaiknál. Mivel az 1. táblázatbeli pH-potenciometriás módszerrel meghatározott állandók makroállandók, melyek az egyes csoportok

¹ Valamennyi táblázatban a stabilitási állandók után a zárójelben lévő számok a standard deviációt jelölik.

Imidazoltartalmú monohidroxámsavak oldatbeli kölcsönhatása Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -ionokkal

bázicitására vonatkozóan közvetlen információt nem szolgáltatnak, ezért a kérdés megválaszolásához ^1H NMR titrálásokat végeztünk. A 13./a ábrán az *N*-Me- α -Alaha A, B és C jelű protonjainak kémiai eltolódás-változásai láthatóak a pH^* függvényében. Az NMR spektrumokbeli megfelelő kémiai eltolódások illesztésével, a *Scientist* program segítségével [122] a mikroállandók kiszámítása azt az eredményt adta, hogy a két csoport bázicitása kissé különbözik egymástól, egy kicsit az amino tűnik bázikusabbnak. ($\text{pK}_{\text{hidrox}} = 8,28$, $\text{pK}_{\text{amino}} = 8,63$). Az eredmények úgy értelmezhetőek, hogy az *N*-Me- α -Alaha esetén az R_N helyzetben lévő metilcsoport az α -Alaha-ban még valamelyest nagyobb bázicitású hidroxamát bázicitását, egyezéskben 2.4 fejezetben részletezett okok miatt, csökkentette [33, 36].

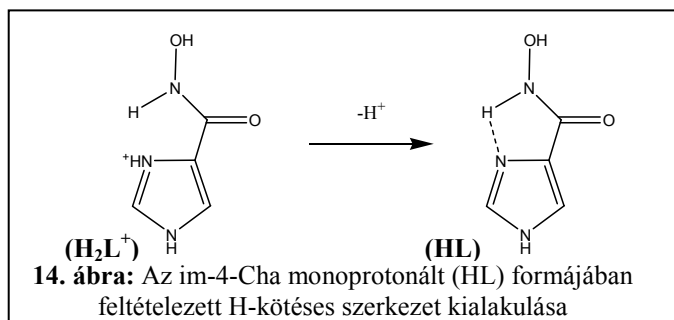
Az *N*-Me- β -Alaha esetén a metilcsoport belépése a β -Alaha-ban már amúgy is kisebb bázicitású hidroxamát bázicitását még jobban csökkentette, melynek eredményeként a két csoport bázicitása messzebb kerül egymástól. A csoportok viszonylag elkülönült deprotonálódása jól látszik a 13./b ábrán a B-vel jelzett proton kémiai eltolódásának pH^* függvényében mutatott változásából. Az eredményekre alapozva, az 1. táblázatban szereplő kisebb makroállandó jó közelítéssel a hidroxámsavcsoport, a nagyobb az ammóniumcsoport protonvesztéséhez rendelhető.



(2) Az oldalláncban ammónium- helyett imidazóliumcsoportot tartalmazó ligandumok (im-4-Cha, im-4-Aha, Z-Hisha és *N*-Me-im-4-Cha) esetében mind az

elméleti megfontolások, mind az ^1H NMR titrálások eredményei alapján megállapítható, hogy az imidazólium- és hidroxámsavcsoportok egymástól elkülönült pH tartományban deprotonálódnak és minden esetben a kisebb pK az imidazóliumcsoport, a nagyobb a hidroxámsavcsoport deprotonálódásához rendelhető. Az imidazóliumcsoportok pK-inak értékei (1. táblázat) mindegyik ligandum esetében kisebbnek adódtak magára az imidazóliumra vonatkozó irodalmi értéktől (pK ~ 7) [123]. Az eltérés a hidroxámsavcsoport elektronszívó hatásával magyarázható, mely a két α -származéknál (im-4-Cha és *N*-Me-im-4-Cha) erősebben jelentkezik, mint a β -nál (im-4-Aha), és még kevésbé számottevő a γ -származéknál (*Z*-Hisha). Mindezek mellett az im-4-Cha esetében az imidazólium pK_{s1} értékének meglepően alacsony volta (a szabad imidazólium pK-jához képest közel 3 nagyságrend csökkenés) arra enged következtetni, hogy az imidazóliumcsoport proton leadását a hidroxámsav-NH és imidazol-N között létrejövő öttagú intramolekuláris H-híd teszi különösen kedvezményezetté. A H-kötéses szerkezet kialakulását a 14. ábra szemlélteti. Az *N*-Me-im-4-Cha esetében a metil szubsztituens jelenlétének következtében H-híd kialakulására nincs lehetőség.

Az im-4-Cha és *Z*-Hisha ligandumok esetében az 1. táblázat a vizes



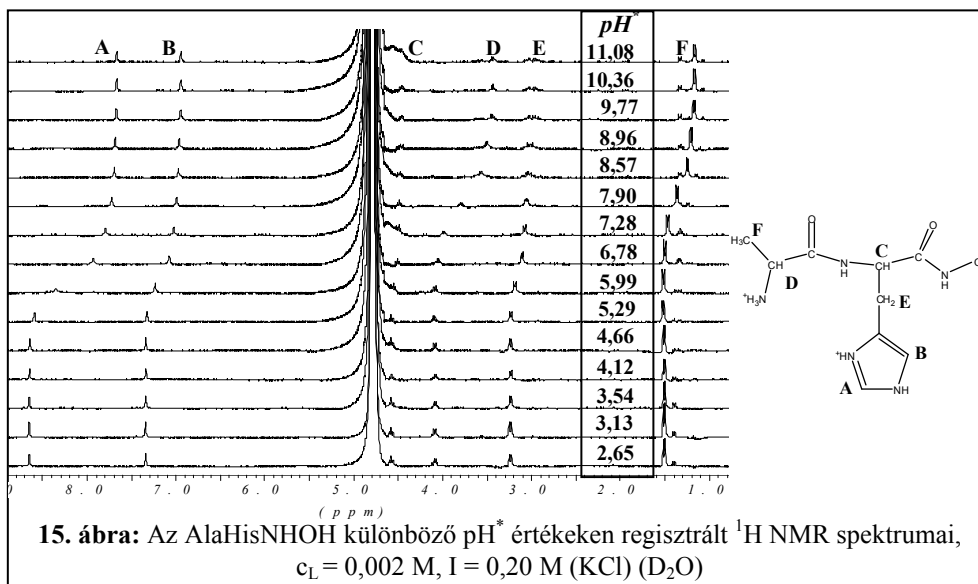
közegbeli savi disszociációs állandók mellett a 50 : 50 %(m/m) DMSO/víz oldószer-elegy alkalmazása mellett meghatározott értékeket is mutatja. Jól látható, hogy az

oldószer-elegy alkalmazásakor az imidazólium pK-jának csökkenése, míg a hidroxámsavcsoport pK értékének növekedése figyelhető meg oldószer-elegyben a vizes közegbeli állandókkal összehasonlítva. Ez a tapasztalat jó egyezésben van az irodalomban már korábban elemzett tapasztalatokkal [124], miszerint a pozitív imidazóliumcsoport deprotonálódása, mely semleges formát eredményez, kedvezőbb a vízhez képest kevésbé poláros oldószer-elegyben, mely kisebb pK_s-t eredményez. Ezzel ellentétben a semleges hidroxámsavcsoport protonvesztése negatívan töltött hidroxamátcsoporthoz eredményez, melynek kialakulása már nem

kedvező a kisebb polaritású DMSO/víz elegyben, és ez a hatás a $\text{pK}_{\text{s}2}$ érték növekedésében mutatkozik meg.

(3) Az R_{C} oldalláncban már ammónium- és imidazóliumcsoportot is tartalmazó ligandumoknál (Hisha, *N*-Me-Hisha) a deprotonálódási folyamatok várhatóan jelentős átfedést mutatnak. A Hisha savi disszociációs állandóit már korábban többen is meghatározták, mely értékekkel a jelen munka során meghatározott állandók is jó egyezést mutattak [35-36, 89-90]. NMR technikával számos kísérlet történt a Hisha deprotonálódási mikroállandóinak meghatározására, ahogy az a 2.4 fejezetben összefoglalásra került, de mivel a viszonylag kis molekulában a három donorcsoport közül egyik deprotonálódásának a független nyomkövetése sem volt lehetséges, a kísérletek eddig nem jártak sikerrel [34-36]. Összehasonlítva a Hisha és *N*-Me-származékának állandóit látható, hogy a $\text{pK}_{\text{s}1}$ értékek, melyek NMR eredmények alapján mindkét ligandumban az imidazóliumcsoport protonvesztéséhez rendelhetők, közel egyforma értékek. Megfigyelhető továbbá, hogy az *N*-Me-Hisha esetén a $\text{pK}_{\text{s}2}$ és $\text{pK}_{\text{s}3}$ értékek közötti különbség kisebb, mint a Hisha-nál, mely értelmezhető azzal a korábban már említett hatással, miszerint a metilcsoport belépése csökkenti a hidroxamát bázicitását, ezáltal a két protont hordozó csoport (ammónium- és hidroxámsavcsoportok) deprotonálódási tartománya még inkább fedésbe kerül. A deprotonálódási folyamatok nagymértékű átfedése miatt ezen két ligandum esetén az 1. táblázatban szereplő makroállandók részletesebben nem elemezhetőek.

(4) A peptidhidroxámsavak esetében a savi disszociációs állandókat (2. táblázat) pH-potenciometriás mérések mellett a három primer származék esetében NMR titrálásból a PSEQUAD program segítségével is meghatároztuk [107]. A pH-metriásan és NMR módszerrel meghatározott állandók esetenként néhány tized eltérést mutatnak, mely különbség a 3.3.6 fejezetben leírtaknak megfelelően a (9) egyenlet alapján értelmezhető. Reprezentatív példaként a 15. ábrán az AlaHisNHOH különböző pH^* értékeken regisztrált NMR spektrumait mutatjuk be. A három primer peptidhidroxámsavra az NMR titrálások eredményei azt mutatták, hogy a csoportok deprotonálódási pH tartománya, ahogy az a 15. ábrán is látható, csak kismértékű átfedést mutat, így a deprotonálódó csoportok melletti nem labilis protonok kémiai eltolódás változásaiból az egyes csoportok savassági trendje meghatározható.



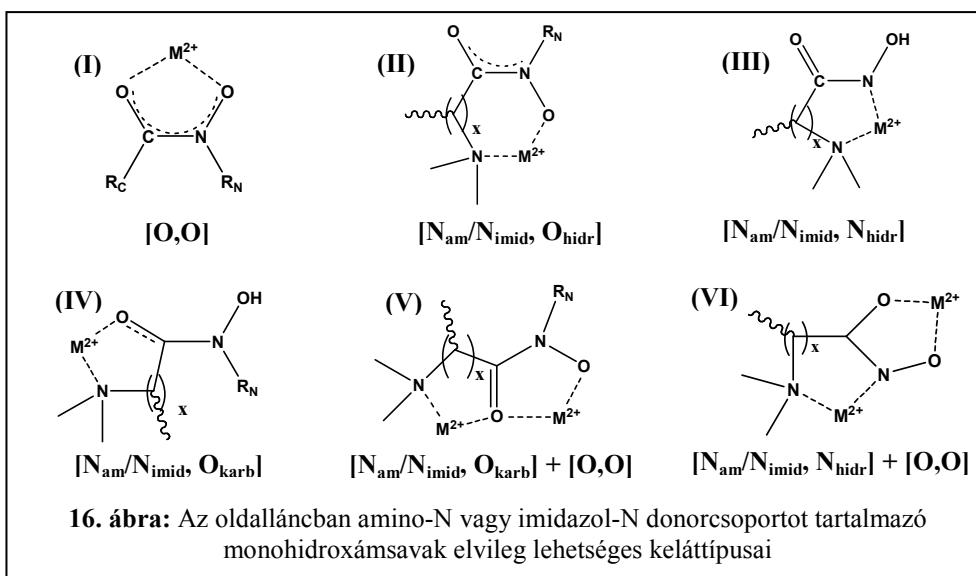
Minden kétséget kizáróan megállapítást nyert, hogy a pK_{s1} az imidazóliumcsoport protonvesztéséhez rendelhető, míg a pK_{s3} a legkevésbé savas hidroxámsavcsoport deprotonálódásához köthető. A HisAlaNHOH és HisAlaN(Me)OH esetében az imidazóliumcsoport deprotonálódásához tartozó, pH-potenciometriásan meghatározott pK_{s1} értékek valamelyest kisebbnek adódtak, mint az a másik két peptidhidroxámsavnál megfigyelhető, ami magyarázható a deprotonálódott imidazol-N és a terminális ammóniumcsoport közötti hattagú intramolekuláris H-hidas gyűrű kialakulásának lehetőségével. Összevetve továbbá a HisAlaNHOH és N-Me-származékának pK_{s3} értékeit látható, hogy egyezésben a várttal, a metilcsoport belépése a hidroxamát bázicitását csökkentette.

4.2. Az R_C oldalláncban amino-N vagy imidazol-N donorcsoportot tartalmazó monohidroxámsavak Cu²⁺-, Ni²⁺-, Zn²⁺-komplexei

Valamennyi ebbe a csoportba sorolható ligandum esetén, melyek oldalláncukban vagy amino-N vagy imidazol-N donortomot tartalmaznak (N-Me-α-Alaha, N-Me-β-Alaha, im-4-Cha, N-Me-im-4-Cha, im-4-Aha, Z-Hisha) az elvileg lehetséges keláttípusok a 16. ábrán összefoglalva láthatóak. A szerkezetek

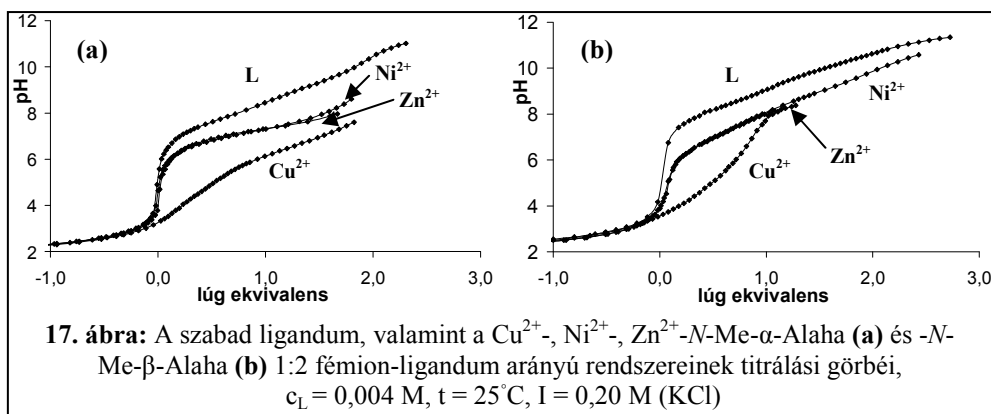
Imidazoltartalmú monohidroxámsavak oldatbeli kölcsönhatása Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -ionokkal

általános formulák, az $x = 0, 1$, vagy 2 attól függően, hogy a donortatomok a hidroxámsavcsoporttól α -, β - vagy γ -helyzetben találhatóak. Természetesen azon molekuláknál, melyek a hidroxamát-N-en metil szubsztituenst hordoznak (N -Me-származékok) a **III.** és **VI.** típusú kötésmódok kialakulása nem lehetséges.



4.2.1. Az amino-oldalláncot tartalmazó ligandumok fémmegkötő sajátsága

Az Irodalmi előzmények fejezetben bemutatott α -Alaha, β -Alaha ligandumok fémmegkötő sajátságának összevetése azon származékaikkal, melyek esetén már a hidroxamát-N nem vehet részt a koordinációban (N -Me-származékaik) érdekes és új eredményeket szolgáltat. Ennek tanulmányozása érdekében kerültek előállításra az N -Me- α -Alaha és N -Me- β -Alaha ligandumok. Méréseinket elsőként pH-potenciometriás titrálásokkal kezdtük mindhárom fémionnal a „Kísérleti körülmények és vizsgálati módszerek” fejezetben megadott arányoknál. Reprezentatív példaként a 17. ábrán mindkét ligandum esetében egy kiválasztott fémion-ligandum aránynál a titrálások eredményei látszanak.



Összehasonlítva a két rendszert, a titrálási görbékről jól látszik, hogy az *N*-Me- α -Ala (17./a) esetén a szabad ligandumhoz képest a ligandum mindkét protonját kisebb pH-n szorítják le a fémionok, feltehetően tehát mindkét donorcsoport részt vesz a koordinációban. Ezzel ellentétben az *N*-Me- β -Ala Cu^{2+} - és Zn^{2+} -rendszereiben csapadékkiválás (pH ~ 8 -ig) csak az egyik protont hordozó donorcsoport disszociációja következik be (17./b). A Ni^{2+} -tartalmú mintában ugyan csapadékkiválás nem volt megfigyelhető, de itt is, hasonlóan a másik két fémionhoz, fémion-indukáltan csak egy proton disszociációja történik meg, a másik protonvesztési folyamat azon pH-tartományban következik be, ahol az a szabad ligandum esetén is megtörténik. A titrálási görbék illesztésével kapott oldategyensúlyi modellt, a benne szereplő részecskékre számolt stabilitási állandókkal a 3. táblázat tartalmazza. Látható, hogy döntően protonált mono- és biszkomplexek képződésével lehetett a titrálási görbéket illeszteni.

A kötőmódok tisztázása érdekében a Cu^{2+} - és Ni^{2+} -komplexek esetén UV-látható spektrofotometriás, valamint a Cu^{2+} -*N*-Me- α -Ala rendszerben CD spektroszkópiás méréseket is végeztünk. A Zn^{2+} -komplexek tanulmányozására mindkét esetben ^1H NMR titrálások készültek.

Imidazoltartalmú monohidroxámsavak oldatbeli kölcsönhatása Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -ionokkal

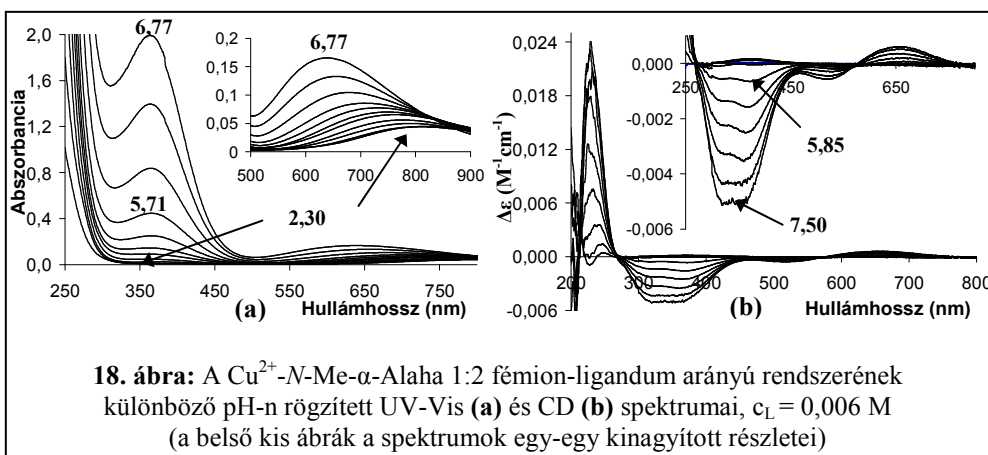
3. táblázat: A Cu^{2+} -, Ni^{2+} -, Zn^{2+} -*N*-Me- α -Alaha és -*N*-Me- β -Alaha rendszerekben képződő komplexek stabilitási állandói ($\log \beta$), $t = 25^\circ\text{C}$, $I = 0,20 \text{ M}$ (KCl)

ligandum	komplex	Cu^{2+}	Ni^{2+}	Zn^{2+}
		$\log \beta$		
<i>N</i>-Me-α-Alaha	$[\text{MLH}]^{2+}$	15,16(2)	12,52(2)	12,31(9)
	$[\text{ML}]^+$	8,86(3)	5,47(3)	5,43(4)
	$[\text{MLH}_{-1}]$	-	-3,50(6)	-
	$[\text{ML}_2\text{H}_2]^{2+}$	28,98(5)	-	-
	$[\text{ML}_2\text{H}]^+$	22,7(4)	17,38(9)	-
	$[\text{ML}_2]$	15,77(4)	9,78(4)	9,96(9)
<i>N</i>-Me-β-Alaha	$[\text{MLH}]^{2+}$	16,71(3)	14,09(3)	14,04(4)
	$[\text{ML}_2\text{H}_2]^{2+}$	31,97(8)	27,60(4)	27,60(4)
	$[\text{ML}_2\text{H}]^+$	23,5(1)	19,39(4)	19,43(6)
	$[\text{ML}_2]$	-	10,21(4)	10,1(3)
	$[\text{ML}_2\text{H}_{-1}]^-$	-	-0,11(3)	-

A Cu^{2+} - és Ni^{2+} -*N*-Me- β -Alaha rendszerek 1:2 fémion-ligandum arányoknál rögzített UV-Vis spektrumai szinte teljes hasonlóságot mutattak az ugyanezen fémionok acetohidroxámsav rendszereiben, ugyanilyen arányok mellett regisztrált spektrumokkal, ahol csak hidroxamát koordináció lehetséges. (A Cu^{2+} -Aha rendszerben a hidroxamát [O,O]-koordinációra jellemző töltésátviteli sáv λ_{max} értéke $\sim 380 \text{ nm}$, továbbá pH $\sim 7,5$ -nél a d-d sávra vonatkozóan a $\lambda_{\text{max}} = 650 \text{ nm}$, mely pH-n a $[\text{CuL}_2]$, melyben bizonyítottan két hidroxamát [O,O]-kelát koordinálódik a fémionhoz, szinte 100 %-ban van jelen. A Ni^{2+} -Aha rendszerben az $^1\text{A}_{1g} \rightarrow ^1\text{A}_{2g}$ átmenetnek megfelelő d-d sáv $\lambda_{\text{max}} = 390 \text{ nm}$ -nél, míg az $^1\text{A}_{1g} \rightarrow ^1\text{B}_{1g}$ átmenethez rendelhető $\lambda_{\text{max}} = 655 \text{ nm}$ -nél mutatkozik pH $\sim 8,5$ -nél, a szintén [O,O]-koordinált biszkomplex esetén [30-31]). Mindezen adatokkal az *N*-Me- β -Alaha rendszerekre kapott eredményeink jó egyezésben vannak, ami, hasonlóan a titrálási görbék kapcsán tett megállapításokkal, tisztán [O,O]-koordináció kialakulására utal, tehát feltehetően az aminos csoport ezen esetekben nem vesz részt a koordinációban.

Ezzel ellentétben a Cu^{2+} -*N*-Me- α -Alaha rendszerre 1:2 fémion-ligandum aránynál, különböző pH-n rögzített UV-Vis spektrumokban, melyeket a 18./a ábra mutat, a d-d sáv kisebb abszorpciós maximumig ($\lambda_{\text{max}} = 632 \text{ nm}$) tolódik, ami a

17./a ábrával is összhangban, arra utal, hogy az *N*-Me- α -Alaha esetében más, feltehetően az aminos csoportot is magában foglaló koordinációs mód valósul meg.

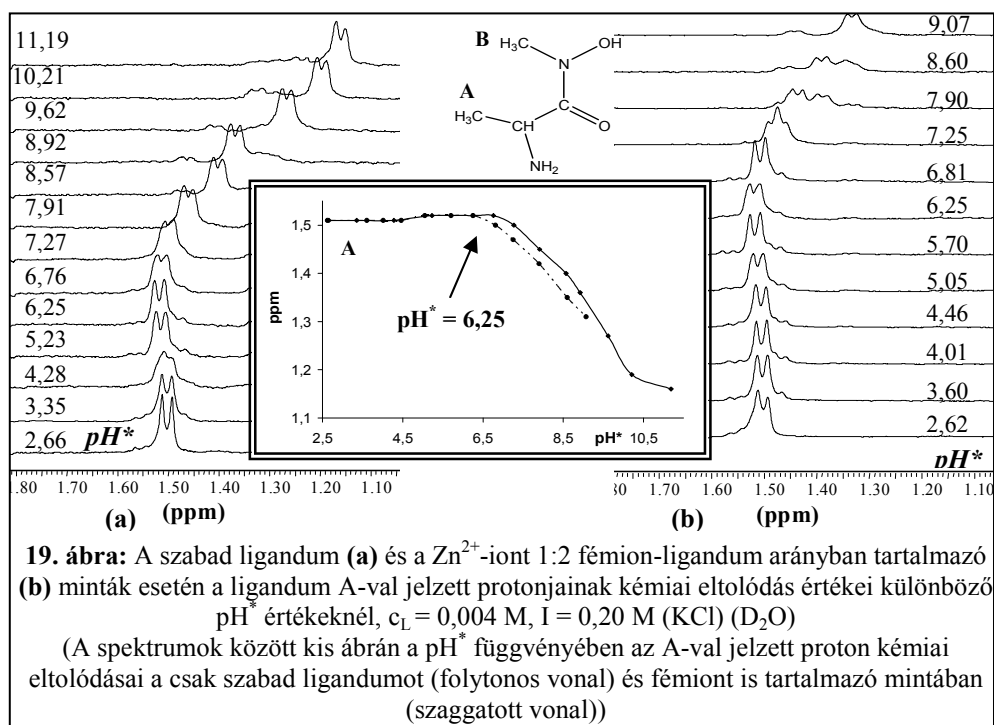


Az ugyancsak 1:2 fémion-ligandum aránynál rögzített CD spektrumok is, melyeket a 18./b ábra szemléltet, alátámasztják az előbbi kijelentést, ugyanis a spektrumokban bár pH $\sim 5,4$ -ig nem mutatkozik számottevő CD effektus, de pH = 5,85-től indulóan egy 300-450 nm közötti széles, egyre nagyobb intenzitású negatív Cotton-effektus jelenik meg. Tekintettel arra, hogy a korábbi eredmények [40-42] azt mutatták, hogy a CD spektrumban a hidroxamát-koordináció egy $\lambda_{\text{max}} = 350 \text{ nm}$ -nél jelentkező pozitív Cotton-effektussal jellemezhető, a 18./b ábra alapján megállapítható, hogy a tanulmányozott rendszer esetén nem tisztán hidroxamát [O,O]-koordináció valósul meg, az aminos csoportnak is szerepe van a koordinációban. Feltehetően tehát az 5-tagú [O,O]-kelát mellett egy 6-tagú amino-N és hidroxamát-O-en keresztüli vegyes koordinációs mód kialakulása következik be.

A Ni^{2+} -tartalmú rendszer esetén, az 1:2 fémion-ligandum aránynál rögzített UV-Vis spektrumok karaktere (pH = 3-6 tartományban: $\lambda_{\text{max}1} = 390 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{max}2} = 652 \text{ nm}$) a csapadékkiválásig (pH ~ 6) az acetohidroxamát rendszerben, ugyanilyen aránynál felvett spektrumokkal mutat hasonlóságot [30-31]. Az amino-N koordinációban való szerepe tehát a vizsgálható pH-tartományban nem nyert igazolást. Feltehetően azzal magyarázható mindez, hogy az oktaéderez Ni^{2+} -komplexe kis moláris abszorbanciája miatt alkalmazott nagyobb analitikai koncentrációknál ($c_L = 0,010 \text{ M}$), pH ~ 6 felett, ahol az aminos csoport részvétele már mutatkozna, csapadékkiválás következik be.

Imidazoltartalmú monohidroxámsavak oldatbeli kölcsönhatása Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -ionokkal

A Zn^{2+} -komplexek tanulmányozására NMR titrálásokat végeztünk a szabad ligandumra, majd az 1:2 fémion-ligandum arányú rendszerre. A titrálás eredményeit a 19. ábra foglalja össze. A ligandum A-val jelzett, nem labilis protonjának kémiai eltolódás értékei egyértelműen mutatják, (19. belső kis bekeretezett ábra) hogy az aminos csoport pH ~ 6,25 felett „érzi” a fémion jelenlétét, ugyanis a kémiai eltolódás a fémiont is tartalmazó mintában (szaggatott vonal) a szabad ligandumétól (folytonos vonal) eltér. A ligandum B-vel jelzett protonjainak kémiai eltolódása nem mutat számottevő különbséget a fémion távollétében és jelenléte esetén mért mintákban.



19. ábra: A szabad ligandum (a) és a Zn^{2+} -iont 1:2 fémion-ligandum arányban tartalmazó (b) minták esetén a ligandum A-val jelzett protonjainak kémiai eltolódás értékei különböző pH* értékeknél, $c_L = 0,004 \text{ M}$, $I = 0,20 \text{ M}$ (KCl) (D_2O)

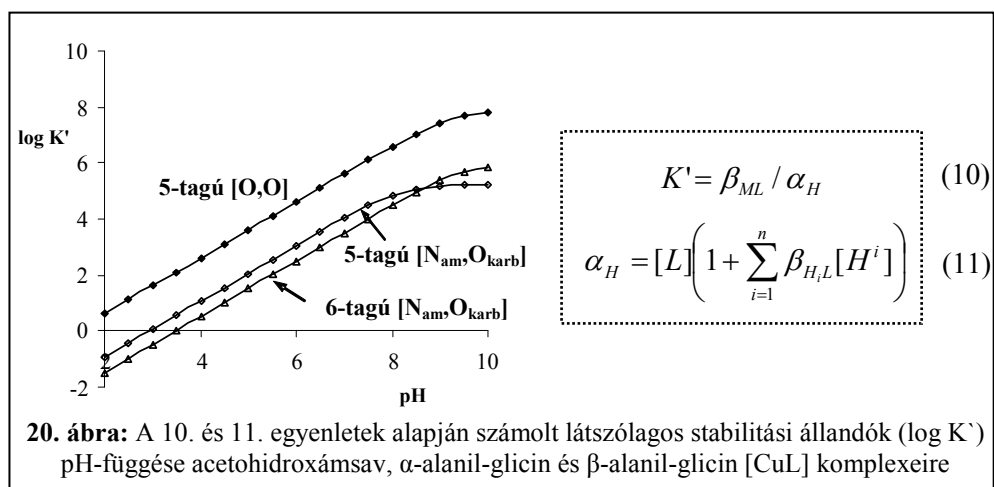
(A spektrumok között kis ábrán a pH* függvényében az A-val jelzett proton kémiai eltolódásai a csak szabad ligandumot (folytonos vonal) és fémiont is tartalmazó mintában (szaggatott vonal))

Mindezen kísérleti eredmények tehát az *N*-Me-β-Ala-t tartalmazó komplexekben a 16. ábrán szereplő **I.**, míg *N*-Me-α-Ala-val az **I.** és **II.** típusú kelátok képződését valószínűsítik.² Ezen két keláttípus mellett a 16. ábrán bemutatottak

² Az *N*-Me-β-Ala esetén a **II.** kelát kialakulásának lehetősége azért is vethető el, szemben az α-származékkal, mert kialakulása 7-tagú kelátot eredményezne, ami jól ismert, hogy sokkal kisebb stabilitású egy 5- vagy 6-tagúhoz képest.

közül elviekben még a **IV.** kialakulásának van lehetősége. A hidroxamát 5-tagú [O,O]-kelát mellett az 5- és 6-tagú [NH₂,O_{karb}]-kelátok képződésének lehetőségét Cu²⁺-komplexek esetén látszólagos stabilitási állandókat számolva elemeztük. Ehhez a számoláshoz olyan modell ligandumokat választottunk, melyekkel a kérdéses kelátok bizonyítottan képződnek. Így az 5-tagú [NH₂,O_{karb}]-kelát modellezésére a Cu²⁺-α-alanil-glicin [CuL], míg a 6-tagú [NH₂,O_{karb}]-kelát modellezésére a Cu²⁺-β-alanil-glicin [CuL] komplexét választottuk [125-126]. Az **I.** kelát modellezésére a Cu²⁺-Aha rendszerben képződő [CuL] részecskét választottuk [31]. A látszólagos stabilitási állandókat (K') a (10) és (11) egyenletek alapján képeztük (20. ábra). A számolt állandók logaritmusát (log K') a pH függvényében ábrázolva a 20. ábra mutatja, melyből jól látható, hogy az 5-tagú [O,O]-kelát stabilitása a vizsgált teljes pH = 2 - 10 tartományban a másik kettőhöz viszonyítva lényegesen nagyobb, tehát a **IV.** típusú kelát kialakulása nem kedvezményezett.

A 20. ábrán látható trend valósul meg a másik két fémion esetén is.



4.2.2. Az imidazol-oldalláncot tartalmazó ligandumok fémmegkötő sajátsága

Az ezen csoportba sorolható ligandumok, melyek protonált formáinak szerkezeti képlete az 1. ábrán összefoglalva látható, az R_C „oldalláncban” az aminocsoport helyett egy attól jóval kisebb bázicitású, imidazolcsoportot

Imidazoltartalmú monohidroxámsavak oldatbeli kölcsönhatása Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -ionokkal

tartalmaznak. Tanulmányoztuk az im-4-Cha, im-4-Aha és Z-Hisha komplexképző tulajdonságait, mely ligandumok az imidazolcsoportot rendre α -, β - és γ -helyzetben tartalmazzák a hidroxámsavcsoporthoz képest, a hidroxamát-N-nek pedig hidrogén a szubsztituense, miáltal a deprotonálódását követően, a koordinációban részt vehet. Ahogyan azt az aminohidroxámsavak esetén is tettük, ezen három ligandum *N*-metil származékának előállítását és tanulmányozását is terveztük, de tiszta, stabilis végterméket csak az α -helyzetű *N*-Me-imidazolhidroxámsav (*N*-Me-im-4-Cha) előállítása során kaptunk. Méréseinket elsőként, hasonlóan a korábbi rendszerekhez, pH-potenciometriás titrálásokkal kezdtük, melynek kísérleti tapasztalatai a következő főbb pontokban foglalhatóak össze:

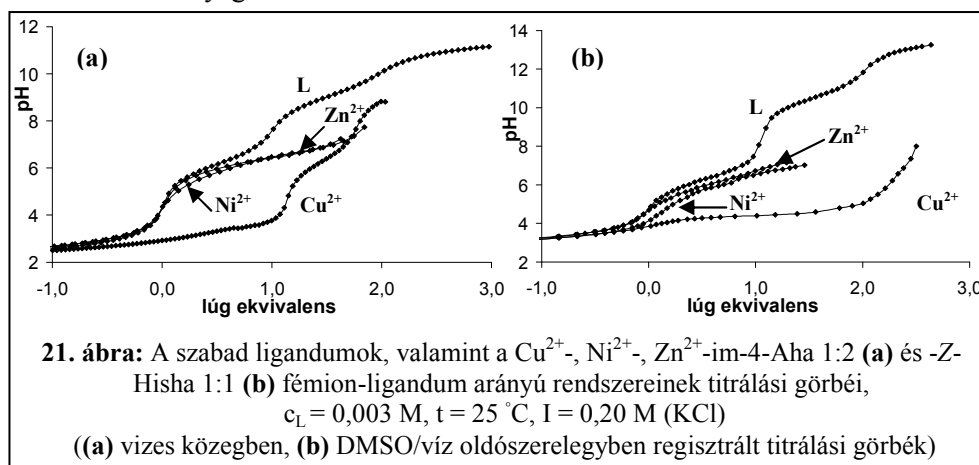
(1) Az imidazolcsoportot α -helyzetben tartalmazó **im-4-Cha** fémkomplexeinél nagymértékű oldékonysági problémákba ütköztünk vizes közegbeli méréseinknél. A Cu^{2+} -tartalmú rendszerekben már pH $\sim$ 3,50 felett csapadékkiválást tapasztaltunk, míg a Ni^{2+} és Zn^{2+} esetén a minták pH = 7-ig voltak titrálhatóak. Mindezek ellenére az látható volt a titrálási görbékéből, hogy a Cu^{2+} - és Ni^{2+} -ionok az imidazol- NH^+ protont a szabad ligandumbeli deprotonálódáshoz képest kisebb pH-n szorítják le, ami utal az imidazolcsoport koordinációban való részvételére. A Zn^{2+} -ion esetén viszont már csak igen csekély pH-effektus mutatkozott.

A vizes közegben bekövetkező jelentős oldékonysági problémák miatt méréseinket 50 : 50 %(m/m) DMSO/ H_2O oldószerkeletben is elvégeztük. Oldószerkelet alkalmazásával a Cu^{2+} -tartalmú rendszerekben képződő komplexek pH = 5-ig voltak oldatban tarthatóak, a másik két fémion esetén pH $\sim$ 8 felett jelent meg a csapadék.

(2) Az imidazolcsoportot β -helyzetben tartalmazó **im-4-Aha** esetén a komplexek pH $\sim$ 7,50 - 8,0-ig voltak oldatban tarthatóak. Reprezentatív példaként ezen ligandum esetén az 1:2 fémion-ligandum arányoknál felvett titrálási görbét a 21./a ábra mutatja, melyből jól látható, hogy a Cu^{2+} -ion esetén a komplexképződés pH = 2,5 felett indul, s igen nagy stabilitású komplex(ek) képződnek, míg a másik két fémionnál mérhető kölcsönhatás csak pH $\sim$ 5,50 felett mutatkozik.

(3) Az apoláris Z-védőcsoport jelenléte miatt az imidazolcsoportot γ -helyzetben tartalmazó **Z-Hisha** esetén is nagymértékű oldékonysági problémák

jelentkeztek. A komplexképződés indulásával párhuzamosan, a Cu^{2+} -tartalmú rendszerben $\text{pH} \sim 4,0$, a Ni^{2+} - és Zn^{2+} -tartalmú mintákban $\text{pH} \sim 5,5$ felett, csapadékleválás következett be. Méréseinket ezért az im-4-Cha-hoz hasonlóan 50:50 % (m/m) DMSO/ H_2O oldószerkeverékben is elvégeztük. A 21./b ábra által mutatott, 1:1 fémion-ligandum aránynál, oldószerkeverékben regisztrált titrálási görbék jól látható, hogy csapadékkiválásig ($\text{pH} \sim 8$ -ig) a Cu^{2+} -tartalmú mintában jelentős a komplexképződéshez rendelhető pH effektus, ami nagy stabilitású komplex(ek) képződésére utal, míg a másik két fémion esetén a kölcsönhatás lényegesen kisebb mértékű.



A titrálási görbék illesztésével a fémkomplexekre számolt stabilitási állandókat a 4. táblázat mutatja. Az im-4-Cha és Z-Hisha ligandumoknál mindkét oldószerben meghatározott stabilitási állandók is szerepelnek.

A 4. táblázat adatait elemezve a következő megállapítások tehetők:

(1) A Cu^{2+} -im-4-Cha rendszerben a pH-potenciometriás görbék illesztése vizes közegben a csapadékleválás miatt szűk pH-tartományban történhetett. A görbék illesztéséhez nem volt elegendő egyetlen, $[\text{CuLH}]^{2+}$ részecske, a protonált monokomplex mellett egy többmagvú részecske figyelembe vételével adta a modell a legjobb illesztést. Ezen utóbbi komplex összetételét, a szerkezetileg analóg α -Alaha-val Cu^{2+} -ion jelenlétében képződő $[\text{Cu}_5\text{L}_4\text{H}_4]^{2+}$ részecske alapján [36], ugyanezen összetételűnek feltételeztük. A polinukleáris komplex jelenlétét az Olaszországban (Sassari) elkészült ESR mérések is igazolták, mivel 1:1 fémion-ligandum aránynál, $\text{pH} \sim 3$ felett már ESR csendes komplex képződött, de a teljesebb elemzést itt is megnehezítette, hogy a részecske megjelenésével

Imidazoltartalmú monohidroxámsavak oldatbeli kölcsönhatása Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -ionokkal

párhuzamosan csapadékleválás mutatkozott. Ugyanezen ok miatt az UV-látható spektrum sem volt nagyon informatív, de a csapadékleválást megelőzően a hidroxamát koordinációra jellemző töltésátviteli sáv ($\lambda_{\text{max}} = 380 \text{ nm}$) megjelent.

4. táblázat: A Cu^{2+} -, Ni^{2+} -, Zn^{2+} -im-4-Cha, -im-4-Aha, és -Z-Hisha rendszerekben képződő komplexek stabilitási állandói ($\log \beta$), $t = 25^\circ \text{C}$, $I = 0,20 \text{ M}$ (KCl)

fémion	komplex	im-4-Cha		im-4-Aha		Z-Hisha	
		H ₂ O	DMSO/H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	DMSO/H ₂ O	
log β							
Cu ²⁺	[CuLH] ²⁺	13,16(8)	14,6(1)	15,12(3)	13,66(5)	14,31(8)	
	[CuL] ⁺	-	11,17(8)	-	-	10,40(6)	
	[CuL ₂ H ₂] ²⁺	-	28,55(6)	-	-	-	
	[CuL ₂]	-	21,84(9)	-	-	-	
	[Cu ₅ L ₄ H ₋₄] ²⁺	39,8(1)	46,0(1)	46,32(8)	33,9(2)	38,5(2)	
Ni ²⁺	[NiLH] ²⁺	12,67(2)	13,97(7)	12,14(7)	11,75(2)	13,02(7)	
	[NiL] ⁺	7,24(5)	8,1(1)	5,61(5)	-	6,81(3)	
	[NiL ₂]	13,30(5)	14,9(2)	10,1(2)	-	-	
	[NiL ₃] ⁻	-	-	15,1(2)	-	-	
	[Ni ₅ L ₄ H ₋₄] ²⁺	-	-	8,8(2)	-	-	
Zn ²⁺	[ZnLH] ²⁺	-	-	-	11,79(5)	13,00(3)	
	[ZnL] ⁺	4,8(1)	7,1(2)	5,49(4)	-	6,61(3)	
	[ZnL ₂]	-	-	9,8(2)	-	-	
	[Zn ₅ L ₄ H ₋₄] ²⁺	-	-	8,0(2)	-	-	

A Cu^{2+} -im-4-Cha rendszerben a titrálási görbék illesztése $\text{DMSO}/\text{H}_2\text{O}$ oldószerkeletben a csapadékleválásig már szélesebb pH-tartományban történhetett. Az oldategyensúlyi modell a mono- és biszkomplexek mellett a többmagvú, $[\text{Cu}_5\text{L}_4\text{H}_{-4}]^{2+}$ részecskével adta a legjobb illesztést. Az oldószerkeletben a polinukleáris komplex jelenlétét ESI-MS mérésekkel (1:1 fémion-ligandum aránynál, pH = 4,50-nél) is alá tudtuk támasztani, mely a spektrumban domináns részecskének mutatkozott ($[\text{Cu}_5\text{L}_4\text{H}_{-4}]^{2+} = 408 \text{ m/z}$).

A Ni^{2+} -tartalmú rendszerekben mindkét oldószerben mono- és biszkomplexekre lehetett stabilitási állandókat számolni. A kötémódok tisztázása érdekében az 1:2 fémion-ligandum aránynál, pH ~ 6-ig regisztrált UV-Vis spektrumok mindkét oldószerben oktaéderes geometriájú komplexek jelenlétére

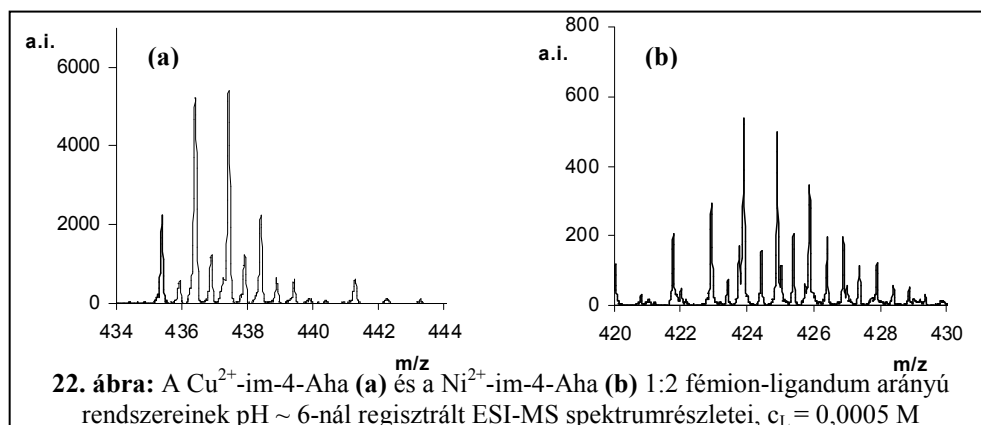
utalnak. A ${}^3A_{2g} \rightarrow {}^3T_{1g}$ átmenethez rendelhető sáv maximuma, a pH = 3,20-ról pH = 5,88-ra növelésével párhuzamosan $\lambda_{\max} \sim 655$ nm-ről $\lambda_{\max} \sim 613$ nm-re tolódik, ami, a fentebb említett Ni^{2+} -Aha rendszer eredményeivel összevetve, utal az oxigén-donor mellett a nitrogén-donor megjelenésére is a fémion koordinációs szférájában. Mindezek alapján a $[NiL]$ és $[NiL_2]$ komplexekbeli koordinációs mód az imidazol-N(3) és a hidroxamát-oxigén fémionhoz való kötődésével valószínűsíthető (16. ábra II. kötés mód). A $[NiLH]^{2+}$ összetételű részecskében feltehetően a hidroxamátcsoport még protonált, s a 16. ábrán összefoglalt kelátok közül minden valószínűség szerint a IV. $[N_{imid}, O_{karb}]$ -kelát valósul meg.

A Zn^{2+} -ion esetében mindkét közegben mindössze egyetlen, a $[ZnL]^+$ részecskére lehetett állandót meghatározni. Az itt be nem mutatott ${}^1H$ NMR titrálások gyenge imidazol-N(3) részvételével kialakuló koordinációra utalnak, feltehetően ezen rendszer esetén is a IV. típusú kelát kialakulása valószínűsíthető.

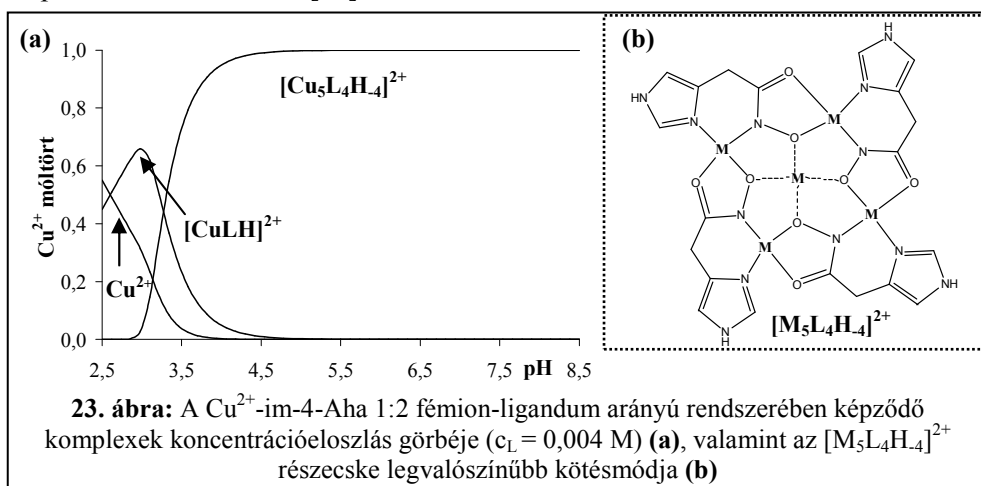
(2) A 4. táblázat jól mutatja, hogy amennyiben az imidazolcsoport β -helyzetben található a hidroxamáthoz képest (*im-4-Aha*), nem csak a Cu^{2+} -, hanem a Ni^{2+} - és Zn^{2+} -tartalmú rendszerekben is be kellett a 12-fémkorona-4 típusú részecskét foglalni a modellbe az adatok megfelelő illesztése érdekében. Ez a komplex a Cu^{2+} -ion esetén rendkívül nagy stabilitást mutat, ami a titrálási görbéből is jól látszott, a Ni^{2+} - és Zn^{2+} -rendszerekben az állandók lényegesen kisebbek. Jelenlétüket ESI-MS mérések igazolják, a spektrumokban detektálható valamennyi részecske a következő m/z értékeknél jelentkezett:

$\{[Cu_5L_4H_{-4}]H_{-1}\}^+ = 874$ m/z, $[Cu_5L_4H_{-4}]^{2+} = 437,5$ m/z, $\{[Cu_5L_4H_{-4}]Cl\}^+ = 910$ m/z, $[NiL_2H_2]^{2+} = 170$ m/z, $[NiL_2H]^+ = 339$ m/z, $\{[NiL_2]K\}^+ = 377$ m/z, $[NiL_3H_2]^+ = 480$ m/z, $[Ni_5L_4H_{-4}]^{2+} = 424$ m/z, $[ZnL_2H]^+ = 345$ m/z, $\{[ZnL_2]K\}^+ = 383$ m/z, $[Zn_5L_4H_{-4}]^{2+} = 438$ m/z.

Reprezentatív példaként a 22. ábra a Cu^{2+} - és Ni^{2+} -rendszerekben, 1:2 fémion-ligandum aránynál, pH ~ 6 -nál regisztrált ESI-MS spektrumok polinukleáris komplexek jelenlétét igazoló részleteit mutatja, melyek a számolt izotópeloszlással teljes mértékben megegyeznek.



A Cu^{2+} -tartalmú polinukleáris részecske dominanciáját az 1:2 fémion-ligandum aránynál szerkesztett koncentrációeloszlás is jól szemlélteti (23./a ábra), hiszen pH ~ 4,5 felett egyeduralkodóként, 100%-ban van jelen. A 23./b ábrán a javasolt kötőmód is látható, melyet a szerkezetileg analóg, amino-oldalláncot tartalmazó β -Alaha ötmagvú Cu^{2+} -komplexének röntgendiffrakcióval is igazolt szerkezetére alapozva valószínűsítünk [70].



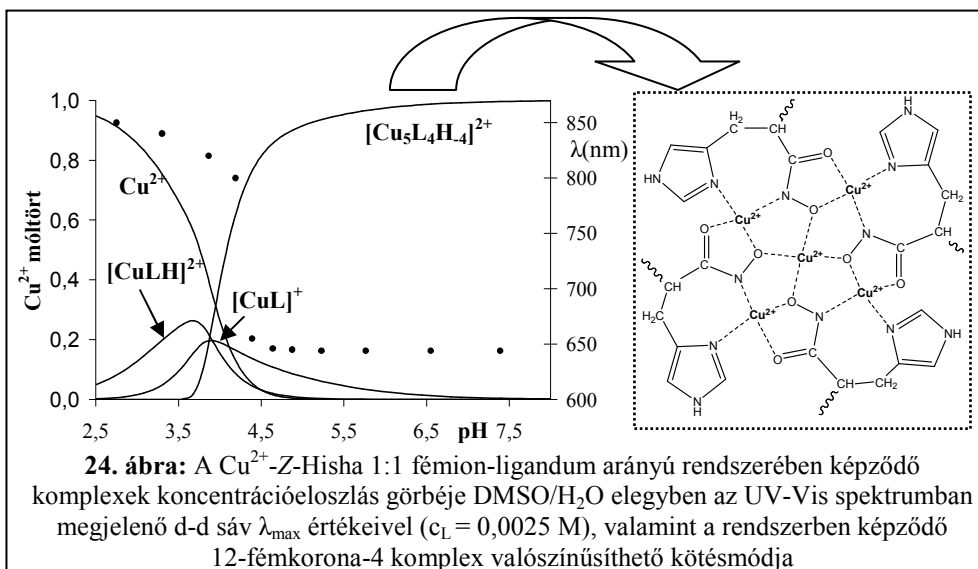
A részecskék kötőmódjainak további tanulmányozása érdekében a Ni^{2+} -tartalmú rendszer esetén, 1:2 fémion-ligandum aránynál, UV-Vis spektrofotometriás mérések is készültek. Az oktaéderes Ni^{2+} -komplexek kis moláris abszorbanáciája miatt a pH-potenciometriánál alkalmazotthoz képest nagyobb analitikai koncentrációk mellett ($c_L = 0,014 \text{ M}$), pH ~ 5,5 felett csapadékkiválás jelentkezett.

A regisztrált spektrumok a csapadék megjelenéséig oktaédres geometriájú komplexek képződését mutatták (pH = 3,0 - 5,5: $\lambda_{\max 1} = 390$ nm, $\lambda_{\max 2} = 647$ nm).

A Zn^{2+} -tartalmú rendszer esetén ^1H NMR mérések készültek a kötésmódok tisztázása érdekében, de a szabad ligandum és a fémiont is 1:2 fémion-ligandum arányban tartalmazó mintákban az im-4-Aha nem labilis protonjainak kémiai eltolódás értékei számottevően nem különböztek egymástól. A $[\text{ZnL}]^+$ és $[\text{ZnL}_2]$ komplexekben feltehetően a hidroxamát-donoratomjain koordinálódik a ligandum a fémionhoz, melyet a részecskékre meghatározott stabilitási állandóknak (4. táblázat) a Zn^{2+} -acetohidroxámsav rendszerben képződő $[\text{ZnL}]^+$ és $[\text{ZnL}_2]$ stabilitási állandóival [31] való jó egyezése is megerősít (Zn^{2+} -Aha: $\log \beta_{[\text{ZnL}]} = 5,32$, $\log \beta_{[\text{ZnL}_2]} = 9,64$).

(3) Az imidazolcsoportot γ -helyzetben tartalmazó Z-Hisha esetén, mely valójában a hisztidinhidroxámsav aminocsoportján benzil-oxi-karbonilcsoporttal védett ligandum, *vizes közegben* szinte a komplexképződés indulása után (a Cu^{2+} -rendszerekben pH ~ 4 , a Ni^{2+} - és Zn^{2+} -iont tartalmazó mintákban pH $\sim 5,5$ -6,0 felett) csapadékleválást tapasztaltunk. A csapadék megjelenéséig kapott kísérleti adatok illesztéséhez $[\text{MLH}]^{2+}$ komplex jelenlétét elegendő volt figyelembe venni Ni^{2+} - és Zn^{2+} -fémionok rendszerében, míg Cu^{2+} -ion esetén az $[\text{MLH}]^{2+}$ mellett a megfelelő illesztéshez a fémkorona-típusú komplexet is be kellett foglalni a modellbe (4. táblázat).

A *DMSO/H₂O oldószerkegyben*, ahogy azt a 21./b ábra is mutatta (51. oldal), valamelyest szélesebb volt a vizsgálható pH-tartomány. A Cu^{2+} -tartalmú mintákban, szemben a másik két fémiont tartalmazóakkal, nagy pH-effektus mutatkozott, ami nagy stabilitású komplex(ek) képződésére utal. Ahogy a modellből is jól látszik ez esetben, a $[\text{CuLH}]^{2+}$ komplex mellett egy $[\text{CuL}]^+$ összetételű részecskét is bele kellett foglalni a modellbe az elfogadható illesztés érdekében, de hasonlóan az imidazolcsoportot α - és β -helyzetben tartalmazó ligandumokhoz, az oldategyensúlyi modell a monokomplexek mellett a $[\text{Cu}_5\text{L}_4\text{H}_4]^{2+}$ komplex jelenlétével adta a legjobb illesztést. Reprezentatív példaként a Cu^{2+} -Z-Hisha 1:1 fémion-ligandum arányú rendszerében képződő részecskék koncentrációeloszlás görbáját a 24. ábra mutatja.

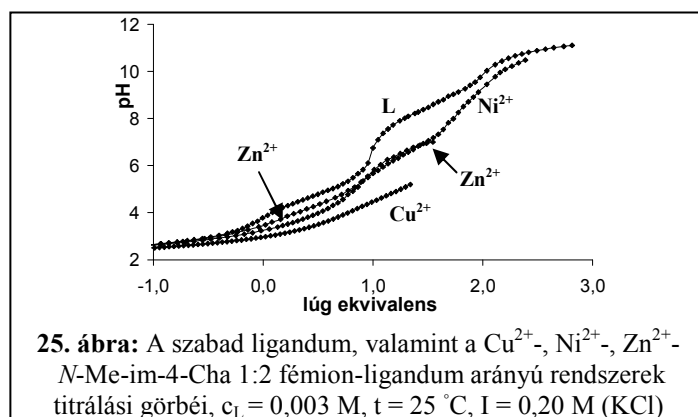


Az ábrán fekete pontokkal az ugyanilyen arányú rendszer esetén regisztrált UV-Vis spektrumokban megjelenő d-d sáv λ_{max} értékei látszanak. A kötémódok megállapítása érdekében a különböző pH-n regisztrált UV-Vis spektrumok csak pH $\sim 3,30$ -tól, a $[\text{CuL}]^+$ részecske képződésével párhuzamosan utalnak egy $\lambda_{\text{max}} \sim 380 \text{ nm}$ -nél megjelenő töltésátviteli sáv megjelenésével a hidroxamát-oxigének koordinációjára, feltehetően a pH $\sim 2,5$ -től indulóan képződő $[\text{CuLH}]^{2+}$ komplexben a hidroxamátcsoport még protonált, és csak monodentát, az $\text{N}_{\text{imidazol}}$ részvételével történő koordináció valósul meg. A fentebb említett spektrális kísérleti eredményekre alapozva a $[\text{CuL}]^+$ részecskében már feltehetően a hidroxámsavcsoport is deprotonálódik és koordinálódik az imidazolcsoport mellett, de ezek egyidejű koordinációja nem egy monomer, hanem inkább többmagvú komplexben valószínűsíthető. Mivel a pH-potenciometria az azonos sztöchiometriájú részecskék között különbséget nem tud tenni, a $[\text{CuL}]^+$ valójában $[\text{CuL}]_x$ képlettel adható meg pontosabban. Feltehetően ezen komplexek „összefűződésével” indul el a fémkorona típusú részecske képződése. Ahogy a 24. ábra is szemlélteti, a pentanukleáris, $[\text{Cu}_5\text{L}_4\text{H}_4]^{2+}$ részecske pH $\sim 4,50$ felett válik dominánssá, jelenlétét ESI-MS mérések is igazolják ($[\text{Cu}_5\text{L}_4\text{H}_4]^{2+} = 763 \text{ m/z}$). A fémkorona-típusú komplex legvalószínűbb kötémódja, az im-4-Aha esetén már említett korábbi eredményekre alapozva, a 24. ábrán látható.

A Ni^{2+} - és Zn^{2+} -tartalmú rendszerekben, vizes közegben csak $[MLH]^{2+}$ részecskére lehetett stabilitási állandót meghatározni, ugyanis a csapadékleválás miatt igen szűk pH-tartományban történt a titrálási görbék illesztése. Oldószerkeletben az $[MLH]^{2+}$ mellett $[ML]^{+}$ komplex jelenlétével volt a modell legjobban leírható, de a csapadékleválás és a fémion-ligandum közötti kis pH-effektus miatt a koordinációs módokat egyértelműen igazolni nem lehetett.

Az imidazolhidroxámsavak *N*-Me-származékai közül „A kísérleti körülmények...” fejezetben említett okok miatt csak az *N*-Me-im-4-Cha előállítás, mely az imidazolcsoportot α -helyzetben tartalmazza, járt sikerrel. Mivel a hidroxamát-N metil szubsztituens tartalmaz, ezért a ligandum ezen donoratomján keresztüli koordináció nem következhet be, konkrétan a 16. ábrán bemutatott kelátok közül a III. és VI. típusúak kialakulása nem lehetséges.

A szabad ligandum, valamint az 1:2 fémion-ligandum arányú minták titrálási



görbéit a 25. ábra mutatja. A Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -*N*-Me-im-4-Cha rendszerek titrálási görbéi csapadékkiválás nélkül valamelyest nagyobb pH-ig voltak regisztrálhatók, mint a primer, im-4-Cha-t

tartalmazó analóg rendszereké. Jól látható a 25. ábráról, hogy a ligandum mindkét disszociálabilis protonja mindhárom fémion esetében fémion indukáltan szorul le. A titrálási görbék illesztésével kapott oldategyensúlyi modellt a benne szereplő részecskék stabilitási állandóival az 5. táblázat mutatja.

Az oldategyensúlyi modell a legjobb illesztést döntően mono- és biszkomplexek feltételezésével adta, de a Cu^{2+} -tartalmú rendszerben még egy $[M_2L_3]^+$ összetételű komplexet is magában foglaló modell szolgáltatja a kísérleti adatok legjobb illesztését, illetve a Ni^{2+} -ion esetén az 1:1 és 1:2 fémion-ligandum arányú komplexek mellett triszkomplex is képződött.

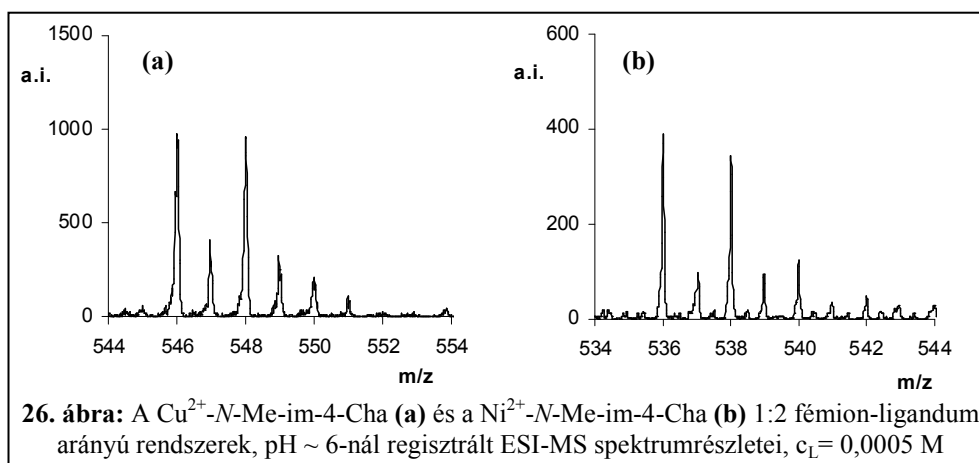
5. táblázat: A Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -*N*-Me-im-4-Cha rendszerekben képződő komplexek stabilitási állandói ($\log \beta$), $t = 25^\circ\text{C}$, $I = 0,20\text{ M}$ (KCl)

ligandum	komplex	Cu^{2+}	Ni^{2+}	Zn^{2+}
		$\log \beta$		
<i>N</i> -Me-im-4-Cha	$[\text{MLH}]^{2+}$	14,16(7)	13,03(3)	12,55(5)
	$[\text{ML}]^+$	9,52(1)	6,35(5)	6,34(5)
	$[\text{ML}_2\text{H}_2]^{2+}$	27,14(1)	25,31(4)	24,46(8)
	$[\text{ML}_2\text{H}]^+$	22,66(1)	19,18(5)	18,28(1)
	$[\text{ML}_2]$	16,90(2)	11,54(8)	-
	$[\text{ML}_2\text{H}_{-1}]^-$	-	1,1(2)	-
	$[\text{ML}_3]^-$	-	15,1(2)	-
	$[\text{M}_2\text{L}_3]^+$	29,70(4)	-	-

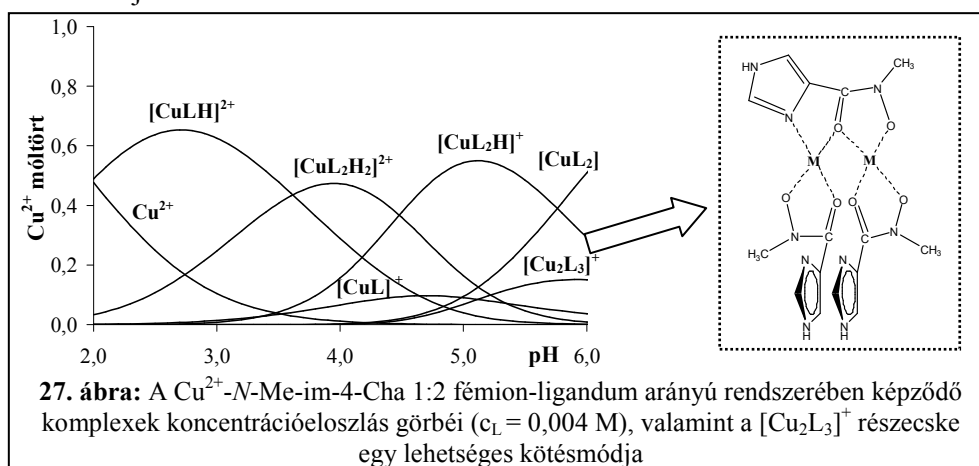
A Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -*N*-Me-im-4-Cha rendszerekben képződő komplexek összetételének igazolására ESI-MS mérések is készültek, a detektálható komponensek a következő m/z értékeknél jelentkeztek:

$[\text{CuL}_2\text{H}]^+ = 344\text{ m/z}$, $[\text{CuL}_2\text{K}]^+ = 382\text{ m/z}$, $[\text{Cu}_2\text{L}_3]^+ = 546\text{ m/z}$,
 $[\text{NiL}_2\text{H}_2]^{2+} = 170\text{ m/z}$, $[\text{NiL}_2\text{H}]^+ = 339\text{ m/z}$, $[\text{NiL}_2\text{K}]^+ = 377\text{ m/z}$, $[\text{NiL}_3\text{H}_2]^+ = 480\text{ m/z}$, $[\text{Ni}_2\text{L}_3]^+ = 536\text{ m/z}$,
 $[\text{ZnL}_2\text{H}_2]^{2+} = 173\text{ m/z}$, $[\text{ZnL}_2\text{H}]^+ = 345\text{ m/z}$.

Az adatokból látszik, hogy bár a kétmagvú nikkell-komplexet az oldategyensúlyi modellbe illeszteni nem lehetett, de jelenléte az ESI-MS spektrumban kimutatható volt. Az $[\text{M}_2\text{L}_3]^+$ komplex jelenlétét igazoló spektrumrészleteket a Cu^{2+} - és Ni^{2+} -tartalmú rendszerekben a 26. ábra szemlélteti.



Az 5. táblázatban szereplő stabilitási állandókat összevetve az ugyanezen fémionok *N*-Me-Aha-val képződő komplexek stabilitási állandóival [31], ahol csak hidroxamát [O,O]-donoratomjain koordinálnak a ligandumok a fémionokhoz megállapítható, hogy az általunk tanulmányozott rendszerekben mind a mono-, mind a biszkomplexek $\sim 1\text{-}1,5$ log egységgel nagyobb stabilitási állandóval jellemezhetők. (*N*-Me-Aha: $\text{pK}_s = 8,70$, $\log \beta_{[\text{CuL}]} = 7,40$, $\log \beta_{[\text{CuL}_2]} = 13,3$, $\log \beta_{[\text{NiL}]} = 4,73$, $\log \beta_{[\text{NiL}_2]} = 8,27$, $\log \beta_{[\text{ZnL}]} = 4,51$, $\log \beta_{[\text{ZnL}_2]} = 8,35$) Ez arra utal, hogy az *N*-Me-im-4-Cha-val képződő komplexekben nem tisztán hidroxamát [O,O]-koordináció valósul meg. Az 5. táblázatbeli stabilitási állandók figyelembe vételével számolt koncentrációeloszlás görbék közül reprezentatív példaként a Cu^{2+} -*N*-Me-im-4-Cha 1:2 fémion-ligandum arányú rendszerére vonatkozót a 27. ábra mutatja.

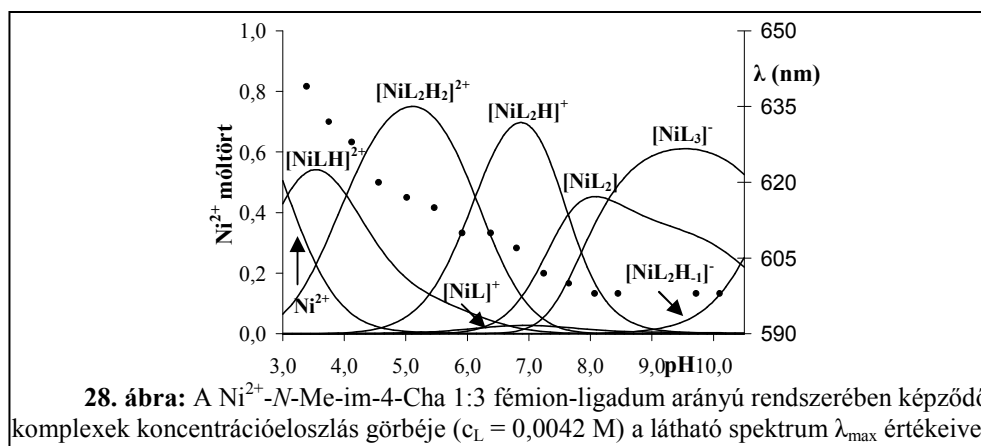


A komplexekbeli kötősmódokra közvetlenebb információt szolgáltatottak a különféle szerkezetvizsgáló módszerekkel történő mérések eredményei. A Cu^{2+} -*N*-Me-im-4-Cha 1:2 fémion-ligandum arányú mintában csapadékleválás miatt pH $\sim 5,5\text{-}6,0$ -ig lehetett UV-látható spektrumokat regisztrálni, melyekben a hidroxamát-oxigének koordinációját mutató töltésátviteli sáv ($\lambda_{\text{max}} \sim 380$ nm) csupán pH = 3,81-től jelentkezik. Ennek eredményeképpen a 27. ábra szerint már kisebb pH-n megjelenő $[\text{CuLH}]^{2+}$ és $[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{2+}$ komplexekben a hidroxamátcsoport még protonálva van és a 16. ábrán szereplő IV. kötősmód, azaz az imidazol-N(3) és esetleg a karbonil-oxigén koordinációja valószínűsíthető. Mindezek mellett a regisztrált spektrumokbeli d-d sáv (pH = 3,81-nél $\lambda_{\text{max}} \sim 730$ nm, pH = 5,19-nél $\lambda_{\text{max}} \sim 625$ nm) azt is mutatja, hogy a hidroxamát koordinálódását követően sem

tisztán [O,O]-kötésmódot tartalmazóak a komplexek, hanem az imidazol-N(3) koordinációban való szerepe is valószínűsíthető. Ezt alátámasztja az a korábban is már részletezett tény, hogy egy monokelátos-[O,O]-kötésmódú komplexre a jellemző λ_{max} érték ~ 750 nm-nél jelentkezik az UV-Vis spektrumban, míg a bisz-[O,O]-kelát kialakulása $\lambda_{\text{max}} = 650$ nm-rel jellemezhető [30-31].

A 27. ábrán jól látható, hogy a kétmagvú komplex képződése pH $\sim 4,0$ felett indul és kb. 20 %-ban van jelen a mono- és biszkomplexek mellett pH $\sim 5,50 - 6,0$ -nál. Jó egyezésben a koncentrációeloszlással, az ESR mérések is utaltak pH $\sim 5,0$ felett dimer komplex megjelenésére. (A mérések csapadékkiválás miatt pH ~ 6 -ig voltak végezhetőek.) A dimer részecske egy lehetséges kötésmódját a 27. ábra mutatja. Ebben a komplexben egy ligandum a három közül hídként kapcsol össze két mono-hidroxamátok-keletos monomert. A hid-ligandum az egyik fémionhoz a hidroxamát-oxigéneken, a másikhoz az imidazol-N(3)- és karbonil-O-en kapcsolódhat. Lehetséges, hogy egy ilyen kötésmódot kedvezményezetté tehet egy steaking-kölcsönhatás, ami két imidazol gyűrű között a 27. ábrán jelölt módon képzelhető el.

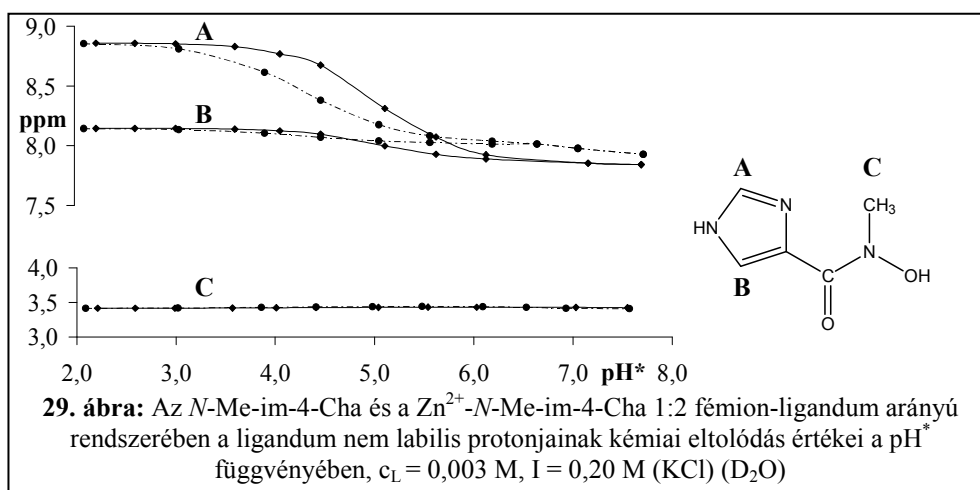
Az UV-látható spektrumok karaktere a Ni^{2+} -tartalmú rendszerben oktaédres geometriájú komplexek képződését támasztják alá.



Ahogy a 28. ábrán, az 1:3 fémion-ligandum aránynál szerkesztett koncentrációeloszlás görbén is látszik, az ugyanilyen aránynál regisztrált látható spektrumban a $^3\text{A}_2 \rightarrow ^3\text{T}_1$ (F) átmenethez rendelhető sáv pH = 3,0-tól pH = 10,0-ig folyamatosan $\lambda_{\text{max}} \sim 647$ nm-ről $\lambda_{\text{max}} \sim 598$ nm-re tolódik. Ezen spektrális kísérleti adat alátámasztja a triszkomplex képződését, ugyanis a Ni^{2+} -im-4-Cha rendszer

esetén, ahol ez a komplex nem jelent meg, a regisztrált spektrumokban a minimum $\lambda_{\max} = 613$ nm volt.

A diamágneses Zn^{2+} -komplexek tanulmányozására NMR titrálásokat végeztünk, a szabad ligandumot (folytonos vonal) és fémiont is 1:2 fémion-ligandum arányban tartalmazó mintában (szaggatott vonal) az *N*-Me-im-4-Cha nem labilis protonjainak kémiai eltolódás értékei a 29. ábrán a pH^* függvényében láthatóak.



Egyezésben a 25. ábrabeli titrálási görbével jól látható a 29. ábrán is, hogy mérhető komplexképződés $\text{pH} \sim 3$ felett indul, nevezetesen a ligandum A-val jelzett protonjának kémiai eltolódása a fémiont is tartalmazó mintában (szaggatott vonal) kezd különbözni a csak szabad ligandumot tartalmazóhoz képest (folytonos vonal). Ezen eltolódás minden kétséget kizáróan az imidazol-N(3) koordinációban való szerepére utal és a 16. ábrabeli kötésmódok közül feltehetően a **IV**. $[\text{N}_{\text{imid}}, \text{CO}]$ valósul meg. Mindezek mellett a 29. ábra jól szemlélteti azt is, hogy $\text{pH} = 5,0$ felett a fémiont is tartalmazó mintában a B-vel jelzett proton jele is elválik a csak szabad ligandumot tartalmazóétól, mely azt bizonyítja, hogy ezen a pH -n az imidazol-N(3) mellett már a hidroxamát-oxigén is részt vesz a koordinációban. (Feltehetően a **IV**. típus mellett a **II**. $[\text{N}_{\text{imid}}, \text{O}_{\text{hidr}}]$ -kelát kialakulása valószínűsíthető.) A ligandum C-vel jelzett metil protonjainak kémiai eltolódása nem mutat számottevő különbséget a fémion távol- és jelenlétében lévő minták esetén.

Ha az előzőekben bemutatott, mind a három primer (im-4-Cha, im-4-Aha, Z-Hisha) és a szekunder (*N*-Me-im-4-Cha) imidazolhidroxámsavak komplexképző

Imidazoltartalmú monohidroxámsavak oldatbeli kölcsönhatása Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -ionokkal

sajátságát összevetjük az imidazolcsoport helyett aminocsoportot tartalmazó származékaikkal (α -Alaha, β -Alaha, GABAha, *N*-Me- α -Alaha) a következő főbb megállapítások tehetők:

- Az aminocsoport jóval kisebb bázicitású imidazolcsoportra történő cseréjével mindegyik ligandummal a komplexképződés, mindhárom fémion rendszerében, alacsonyabb pH-n indul.

- A Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -iont tartalmazó valamennyi rendszer esetén az imidazol- NH^+ protonja fémion indukáltan szorul le, ami az imidazol koordinációját támasztja alá. (A Zn^{2+} -im-4-Cha titrálási görbéi nem mutatnak az imidazol- NH^+ deprotonálódási tartományában a fémkomplexek képződéséhez rendelhető mérhető pH-effektust, de az ^1H NMR eredmények gyenge imidazol-N(3) részvételével történő koordinációra utalnak.)

- Míg valamennyi amino-származék esetén a horgonydonor szerepét a hidroxamát-oxigének töltik be, döntően a Cu^{2+} - és Zn^{2+} -komplexekben, addig a megfelelő imidazol-analógok mindhárom fémiont tartalmazó rendszereiben az imidazol-N(3) a horgony. (A Ni^{2+} -amino-származékok komplexeiben inkább a nitrogéneknek (N_{am} , N_{hidr}) jut meghatározó szerep a fémionok megkötésében.)

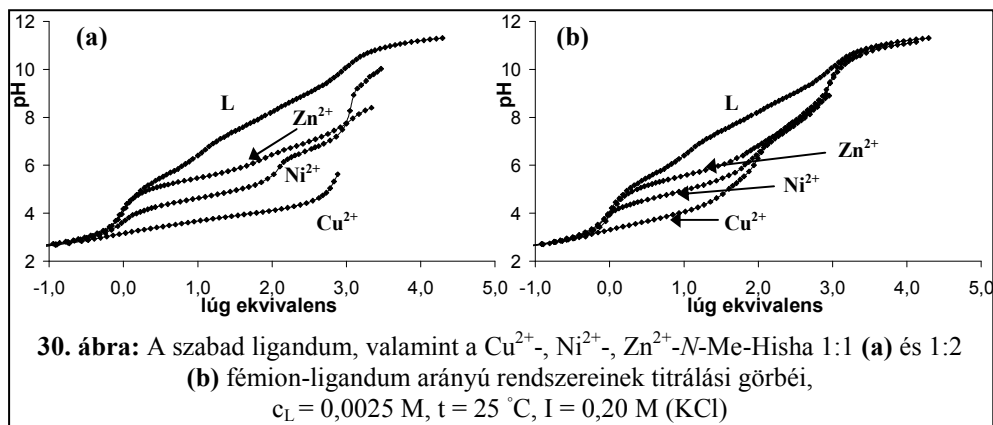
- A megfelelő, primer ($\text{R}_{\text{N}} = \text{H}$) ligandumok fémmegkötő sajátosságát összevetve megállapítható, hogy a Cu^{2+} - α -Alaha, - β -Alaha, -GABAha rendszerekben képződő fémkorona típusú részecskék analógjai az imidazol-származékokkal is képződnek és a stabilitási sorrend is azonosan alakul (a $[\text{Cu}_5\text{L}_4\text{H}_{-4}]^{2+}$ komplexek stabilitási sorrendje az egyes ligandumokkal β -Alaha $\gg$ α -Alaha $>$ GABAha, illetve im-4-Aha $\gg$ im-4-Cha $>$ Z-Hisha). Különbségment meg ugyanakkor, hogy az imidazol-származékok közül az im-4-Cha-val a fémkorona típusú komplex a Ni^{2+} - és Zn^{2+} -ionokkal is kimutatható volt.

- A szekunder ($\text{R}_{\text{N}} = \text{CH}_3$) imidazolhidroxámsav koordinációs képességét összehasonlítva a megfelelő *N*-Me-aminohidroxámsav analóggal megállapítható, hogy míg az *N*-Me- α -Alaha rendszereiben mono- és biszkomplexek képződtek, addig a megfelelő imidazolhidroxámsav Cu^{2+} - és Ni^{2+} -tartalmú mintáiban ezen komplexek mellett kétmagvú részecske is megjelenik, ahol egy ligandum hídként köt össze két hidroxamátó-kelátos monomert.

4.3. Az R_C oldalláncban amino- N és imidazol- N donorcsoportokat tartalmazó monohidroxámsavak Cu^{2+} -, Ni^{2+} -, Zn^{2+} -komplexei

A tanulmányozott két ligandum (Hisha és N -Me-Hisha), melyek ebbe a csoportba sorolhatóak és szerkezeti képletüket az 1. ábrán bemutattuk, a molekula R_C oldalláncában az amino- és imidazolcsoportot is tartalmazzák. Mivel a Hisha fémmegkötő sajátsága már irodalmi előzményekből ismert [34-36, 80-83, 85-86, 89-90], ezért jelen munka során csak reprodukív méréseket végeztünk az eredmények jobb összevethetősége miatt. A Hisha-t tartalmazó rendszerek jelen munka során meghatározott oldategyensúlyi modelljei, a képződő komplexek stabilitási állandói (6. táblázat) mindhárom fémion esetében jó egyezést mutattak a korábban már meghatározott értékekkel. A komplexekben kialakuló koordinációs módokat az Irodalmi áttekintés fejezet már bemutatta [36, 83].

Az N -Me-Hisha esetén a hidroxamát N -metil szubsztituenst tartalmaz, ezáltal a koordinációban nem vehet részt. Ezen donoratom koordinációból való kiiktatásával egy olyan ligandumhoz jutunk, mely a molekula két végén egy-egy jól elkülönült kelátképző csoportot (hidroxamát-[O,O] és hisztamin-típusú [NH_2 , N_{imid}]) tartalmaz. Vizsgálatainkat, hasonlóan a korábbiakhoz, pH-potenciometriás titrálásokkal indítottuk, melynek eredményeit az N -Me-Hisha rendszereiben 1:1 és 1:2 fémion-ligandum arányoknál a 30. ábra mutatja.



A 30./a ábrabeli 1:1 fémion-ligandum arányú titrálási görbéket elemezve megállapítható, hogy a Cu^{2+} -tartalmú mintákban a komplexképződés már $pH \sim 3$ alatt kezdődik, s a ligandum mindhárom disszociálabilis protonját $pH = 5$ -re el is

Imidazoltartalmú monohidroxámsavak oldatbeli kölcsönhatása Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -ionokkal

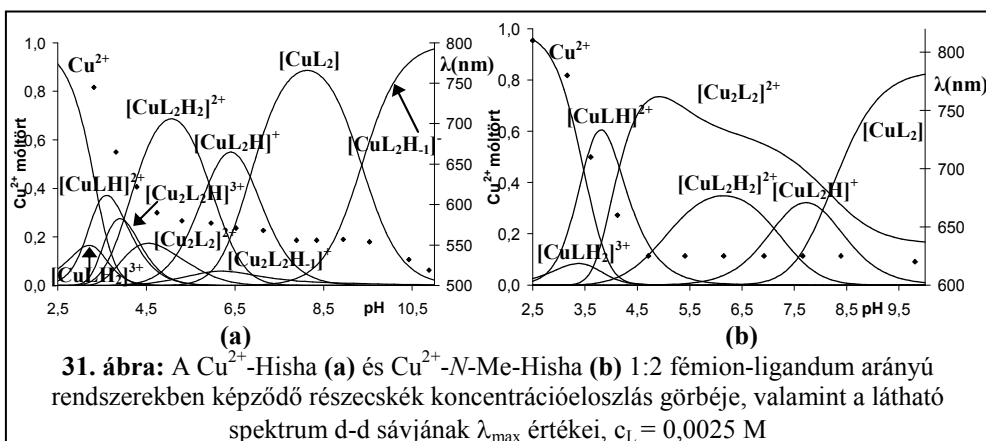
veszíti, de ezután csapadékleválás figyelhető meg. A Ni^{2+} -t tartalmazó rendszerben a komplexképzés pH $\sim 3,5$ -nél indul és az ábrából látható, hogy első lépésben, átfedő folyamatokban, fémion indukáltan 2 ekvivalens protonleszorítás történik, ami a donatoratomok molekulánbelüli elhelyezkedését is figyelembe véve, minden bizonnyal az amino- és imidazolcsoportok koordinációban való szerepére utalhat, a hidroxámsavcsoport feltehetően ekkor még protonált. Egy jól definiált pH-ugrást követően a pH = 6 - 8 tartományban, közel ahhoz a pH-tartományhoz, ahol a hidroxámsavcsoport már a szabad ligandumban is protont veszítene, egy újabb lúgfogyasztó folyamat látható, melyben minden valószínűség szerint a hidroxámsavcsoport deprotonálódása következik be. A Zn^{2+} -tartalmú rendszerben mérhető komplexképződés pH = 5-től figyelhető meg, de a Ni^{2+} -ionnal ellentétben, ez esetben a ligandum protonjainak disszociációja és a hidrolízis jelentősen átfednek. A 30./b ábrán 1:2 aránynál regisztrált titrálási görbékénél a Cu^{2+} - és Ni^{2+} -rendszerekben a fémion hidrolízise a ligandum feleslegének köszönhetően visszaszorul, ami kölcsönhatásra utal ligandumfelesleggel, de a Zn^{2+} -ion esetén pH = 8,5 felett csapadékleválás következik be. A titrálási görbék illesztésével a fémkomplexekre számolt stabilitási állandókat, együtt a Hisha rendszerekre újra meghatározott értékekkel, a 6. táblázat mutatja.

6. táblázat: A Cu^{2+} -, Ni^{2+} -, Zn^{2+} -Hisha és -N-Me-Hisha rendszerekben képződő komplexek stabilitási állandói (log β), t = 25 °C, I = 0,20 M (KCl)

komplex	Hisha			N-Me-Hisha		
	Cu^{2+}	Ni^{2+}	Zn^{2+}	Cu^{2+}	Ni^{2+}	Zn^{2+}
log β						
$[\text{MLH}_2]^{3+}$	20,4(2)	-	-	20,2(1)	-	-
$[\text{MLH}]^{2+}$	17,35(7)	15,27(1)	13,73(5)	17,46(2)	15,45(2)	13,52(3)
$[\text{ML}]^+$	-	9,35(1)	-	-	9,09(3)	6,97(3)
$[\text{MLH}_{-1}]$	-	-	-1,0(7)	-	-	-1,37(4)
$[\text{M}_2\text{L}_2\text{H}]^{3+}$	33,8(2)	-	-	-	-	-
$[\text{M}_2\text{L}_2]^{2+}$	29,43(9)	-	-	29,52(3)	-	-
$[\text{M}_2\text{L}_2\text{H}_{-1}]^+$	23,6(1)	-	-	-	-	-
$[\text{ML}_2\text{H}_2]^{2+}$	33,81(6)	29,32(2)	26,3(2)	32,61(9)	29,69(4)	26,86(4)
$[\text{ML}_2\text{H}]^+$	27,9(1)	23,25(2)	20,49(5)	25,5(1)	22,69(7)	19,70(6)
$[\text{ML}_2]$	21,06(9)	16,29(2)	11,2(1)	17,45(7)	14,53(9)	11,51(7)
$[\text{ML}_2\text{H}_{-1}]^-$	11,7(1)	5,77(4)	-	-	-	-
$[\text{ML}_3\text{H}]$	-	-	-	-	26,9(2)	-
$[\text{ML}_3]^-$	-	-	-	-	18,4(2)	-

Ahogy az a 6. táblázatban látható, a Cu^{2+} -tartalmú rendszerben a titrálási görbék illesztésével kapott modell mono- és biszkomplexek mellett egy $[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{2+}$ összetételű részecskét is tartalmaz. A kísérleti adatok megfelelő illesztése elérhető volt akkor is, ha a $[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{2+}$ komplex helyett az ugyancsak 1:1 fémion-ligandum arányú $[\text{CuL}]^+$ részecske szerepelt a modellben, de a kétmagú komplex jelenlétét igazolja az 1:1 fémion-ligandum aránynál, pH = 5,30-nál felvett ESI-MS spektrum ($[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{2+} = 247 \text{ m/z}$, $\{[\text{Cu}_2\text{L}_2]\text{Cl}\}^+ = 529 \text{ m/z}$).

A Cu^{2+} -N-Me-Hisha rendszerben képződő részecskék koncentrációeloszlás görbéje a 31./b ábrán látható. Az ábrán fekete pontokkal az ugyanilyen arányú rendszer UV-látható spektrumában megjelenő d-d sáv λ_{max} értékei is fel vannak tüntetve. A két ligandum Cu^{2+} -ionnal való kölcsönhatásának jobb összevethetősége érdekében a Cu^{2+} -Hisha 1:2 fémion-ligandum arányú rendszerének koncentrációeloszlás görbáját és a λ_{max} pH-szerinti változását szemlélteti a 31./a ábra.



Látható a 31. ábráról, hogy mindkét rendszerben a mérhető komplex-képződés Cu^{2+} -ionnal pH = 2,50 felett mutatkozik, de míg ESR mérésekkel bizonyítottan a Hisha-val a hidroxamát-oxigének indul a fémion-ligandum kölcsönhatás [36], addig az N-Me-Hisha esetén monodentát, N_{imid} koordinációja igazolt a $[\text{CuLH}_2]^{3+}$ komplexben. Ezen imidazol-N(3) koordinációját ESR méréseink támasztják alá. Nevezetesen, a részecskére meghatározott $A_{\parallel} = 126,0 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ és $g_{\parallel} = 2,373$ értékek hasonlóak, mint amit más, Cu^{2+} -hisztidintartalmú peptid rendszer esetén, egyfogó N_{imid} koordinációra meghatároztak [127]. A $[\text{CuLH}_2]^{3+}$ részecske kötőmódját az 1:1 és 1:2 fémion-ligandum aránynál

regisztrált UV-látható spektrofotometriás méréseink is valószínűsítik, hiszen a hidroxamát-[O,O]-koordinációra utaló töltésátviteli sáv csak $\text{pH} = 3,20$ felett mutatkozik.

A Cu^{2+} -*N*-Me-Hisha rendszerben képződő $[\text{CuLH}]^{2+}$ összetételű részecskéhez ESR méréseink alapján kétféle különböző kötőmód is rendelkezhető, ami kötési izomerek jelenlétét támasztja alá. Az egyikben a hidroxamát-[O,O]-, a másikban a hisztamin-típusú $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{imid}}]$ -kelátokon kapcsolódik a fémion a ligandumhoz. Az [O,O]-kelátra meghatározott ESR paraméterek ($A_{\parallel} = 155,0 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$, $g_{\parallel} = 2,305$) hasonlóak az acetohidroxámsav $[\text{CuL}]$ komplexére mért értékekkel [30], viszont a párhuzamos vonalak nagyobb vonalszélessége, amely a fel nem oldott nitrogén-csatolásból származhat, és az erősebb ligandum térerőssége (kisebb $g_{\parallel}$ érték) az $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{imid}}]$ -koordinációt is alátámasztják ($A_{\parallel} = 156,0 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$, $g_{\parallel} = 2,272$). Az izomerek aránya kb. 60-40 % körül változik a hidroxamát-kelát „javára”.

Hasonlóságként megfigyelhető mindkét Cu^{2+} -ligandum rendszerben, hogy dimer részecskék is képződnek, de megjelenésük az *N*-Me-származék esetén sokkal dominánsabb, mint a Hisha rendszerben, ahol csak ~ 20%-ban vannak jelen vegyes koordinációs móddal [36]. A 31./b ábra jól szemlélteti, hogy a látható spektrum d-d sávja a $[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{2+}$ képződési tartományában nem mutat semmiféle eltolódást, $\text{pH} = 4,50$ felett $\lambda_{\text{max}} = 625 \text{ nm}$ marad. A detektált, $\lambda_{\text{max}} = 625 \text{ nm}$ -es érték kisebb, mint a Cu^{2+} -Aha rendszerben a tisztán bisz-[O,O]-koordináció esetén regisztrált érték ($\lambda_{\text{max}} = 650 \text{ nm}$) [31], viszont nagyobb, mint a Cu^{2+} -hisztamin rendszerben a bisz- $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{imid}}]$ -koordinációjakor jelentkező d-d sáv hullámhossza ($\lambda_{\text{max}} = 600 \text{ nm}$) [128-129]. Mindezen eredményekre alapozva, az átlagos környezeti szabályt is alapul véve, feltehetően egy [O,O]-kelát és egy $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{imid}}]$ -kelát koordinálódik egy fémionhoz. Az UV-Vis adatok mellett CD méréseink is alátámasztják ezen megállapításunkat, ugyanis a spektrumban két sáv ($\lambda_{\text{max}} = 380 \text{ nm}(+)$ és $\lambda_{\text{max}} = 680 \text{ nm}(+)$) jelenik meg $\text{pH} = 4$ felett és ezek a pH további növelésével nem mutatnak semmiféle eltolódást, illetve más sávok sem jelennek meg, csak intenzitásuk növekszik kismértékben. Korábbi eredményeinkre alapozva a $\lambda_{\text{max}} = 380 \text{ nm}$ -nél

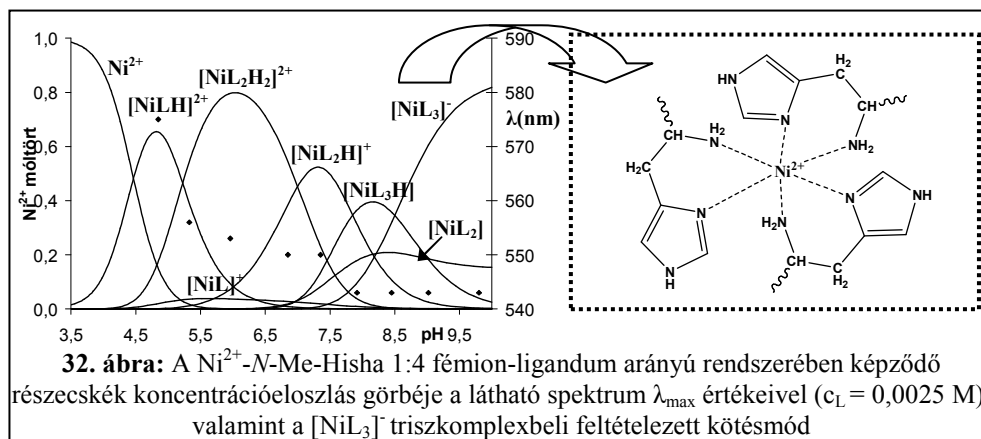
megjelenő sáv a hidroxamát-oxigének koordinációját támasztja alá [40],³ míg pozitív sávot $\lambda_{\max} \sim 680$ nm-nél hisztamin-típusú koordináció esetén regisztráltak korábban [129]. Mivel ezen ligandumnál a két említett kelát egyidejű koordinációja ugyanazon fémionhoz monomer komplexben sztérikusan nem lehetséges, így bizonyos, hogy polinukleáris részecske is képződik. Mindkét szerkezetvizsgáló módszerrel kapott eredményekkel összhangban, ESR méréseink is utalnak pH $\sim 4,0$ felett egy vagy több oligomer komponens megjelenésére, melyekben mind az $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{imid}}]$ -, mind az $[\text{O}, \text{O}]$ -kelátok fémionhoz való koordinációja valósul meg. A spektrális adatok a biszkomplexekben is hasonló koordinációs módok kialakulására utalnak, ugyanis a részecskék képződési pH-tartományában (31./b ábra) a detektált $\lambda_{\max} = 625$ nm, mely a fentebb említett okok miatt valószínűsíti, hogy ezen komplexben is egy $[\text{O}, \text{O}]$ - és egy $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{imid}}]$ -kelát fémionhoz való koordinációja következik be. Mindezek mellett azért az 1:5 fémion-ligandum aránynál felvett ESR spektrumokban az oligomerizációra jellemző singlett jel mellett, bár kis intenzitással, megjelenik egy komponens, melynek spektrális paraméterei ($A_{\parallel} = 176,5 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$, $g_{\parallel} = 2,259$) arra utalnak, hogy ezen arány mellett, kis koncentrációban képződik olyan biszkomplex, melyben a fémionhoz négy nitrogén koordinálódik. (A két-két ekvivalens nitrogén csatolás és a komplex rombusz szimmetriája, az amino- és imidazol-nitrogének transz elrendeződését valószínűsíti a 10. ábra (a) szerkezetéhez hasonlóan. A cisz elrendeződés esetén a két kémiaiilag ekvivalens nitrogén nem ugyanabban az irányban adná a legnagyobb csatolást, így négy eltérő érték adódna.)

Különbségment mutatkozik a két rendszer között, hogy a hidroxamát-N-nek, ha lehetősége van koordinálódni, meghatározó szerep jut nagyobb pH-n. Nevezetesen, a Cu^{2+} -Hisha rendszerben, pH = 8-nál $\sim 90\%$ -ban jelenlévő $[\text{CuL}_2]$ komplexben bisz- $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{hidr}}]$ -koordináció valósul meg, a pH emelésével pedig hidroximát-kelát alakul ki a $[\text{CuL}_2\text{H}_{1.1}]^-$ részecskében [36]. A szekunder származék esetén a metilcsoport jelenléte miatt ezen kötésmód nem valósulhat meg.

A Cu^{2+} -tartalmú rendszerekkel ellentétben, a Ni^{2+} -N-Me-Hisha esetén regisztrált UV-látható spektrumok paraméterei, melyek oktaéderes komplexek

³ A $\lambda_{\max} \sim 350$ nm-nél nem csak a hidroxamát-oxigének, hanem korábbi méréseink és irodalmi adatok alapján is az imidazol-N koordinációjára utaló sáv is megjelenik, ezért feltehetően ezek a regisztrált spektrumban átfedhetnek egymással [130-131].

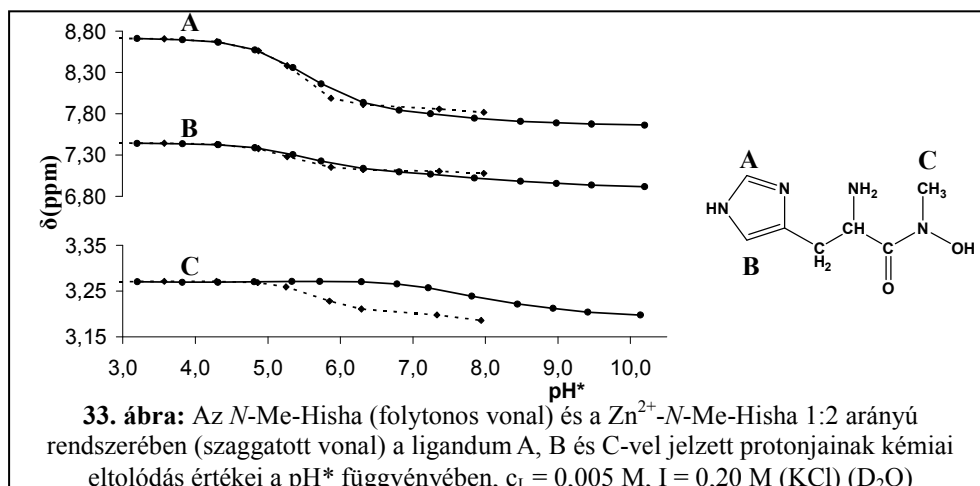
képződését mutatták, tisztán hisztamin-típusú koordinációt támasztják alá, a hidroxamát-oxigének nem vesznek részt a fémionok megkötésében [128]. Látható az oldategyensúlyi modellből, a Ni^{2+} -Hisha rendszerekkel ellentétben, hogy a mono- és biszkomplexek mellett már triszkomplex is képződik. Az 1:4 fémion-ligandum arányú rendszer koncentrációeloszlás görbáját a 32. ábra szemlélteti, melyen fekete pontokkal az ugyanilyen arányú rendszer esetén regisztrált UV-Vis spektrumban megjelenő, $^3\text{A}_2 \rightarrow ^3\text{T}_1$ (F) átmenethez rendelt d-d sáv λ_{max} értékei is fel vannak tüntetve.



A 32. ábrán az UV-Vis spektrum λ_{max} értékei jól mutatják a triszkomplex képződését is, hiszen pH $\sim 7,20$ felett ezen komplexek megjelenésével párhuzamosan a $\lambda_{\text{max}} \sim 553$ nm-ről ~ 542 nm-re tolódik, melyek a fémion koordinációs szférájában lévő 4N mellett további két nitrogén belépését támasztják alá [132]. Megállapítható tehát, hogy a hidroxamát-N koordinációból való kiiktatása következtében az oxigéneknek sem jut szerep a fémionok megkötésében, csak az amino-N és imidazol-N(3) koordinációja következik be oktaéderes geometriájú komplexekben. A 32. ábra a $[\text{NiL}_3]$ részecske feltételezett kötőmódját is mutatja.

Ellentétben a Ni^{2+} -ionnal, mely az eredmények alapján tisztán nitrogénekkel keresztüli koordinálódik a ligandumhoz, a Zn^{2+} -*N*-Me-Hisha rendszerben teljesen más donortom preferencia állapítható meg, melyet a 33. ábrán bemutatott ^1H NMR méréseink mutatnak. A 33. ábrán a szabad ligandum (folytonos vonal) és fémiont is 1:2 arányban tartalmazó rendszerekben (szaggatott vonal) a ligandum A,

B és C-jelzésű, nem labilis protonjainak kémiai eltolódásai értékei látszanak a pH* függvényében.



Jó egyezésben a titrálási görbékkel, a komplexképződés pH = 5,0 felett indul a Zn^{2+} -ionnal, de mérhető kölcsönhatást csak a ligandum C-vel jelzett, nem labilis protonjainak kémiai eltolódás változásai mutatnak, melyek a hidroxamát-oxigének fémionhoz való koordinálódására utalnak. A ligandum „A” és „B”-vel jelzett protonjai, melyek az imidazol-N fémionhoz való kötődését érzik leginkább, a C-vel jelzett proton jeléhez képest csak kismértékű eltolódást jeleznek a fémiont is tartalmazó mintában a szabad ligandumhoz képest. Feltehetően kis koncentrációban az imidazol- és amino-nitrogének koordinációja kötési izomerekben valósulhat meg. Hasonlóan a Zn^{2+} -Hisha rendszerekhez a kísérleti eredmények a Zn^{2+} -*N*-Me-Hisha rendszerekben képződő komplexekben is a hidroxamát-oxigének fémionhoz való kötődése a domináns.

4.4 Az R_C oldalláncban amino-*N*, imidazol-*N* és peptidcsoportot tartalmazó monohidroxámsavak Cu^{2+} -, Ni^{2+} -, Zn^{2+} -komplexei: hisztidintartalmú peptidhidroxámsavak

Ezen ligandumok R_C oldalláncában az amino- és imidazolcsoportok mellett peptidcsoport(ok) is található(ak). Közülük három, melyek szerkezeti képlete az 1. ábrán látható, az AlaHisNHOH, AlaAlaHisNHOH, HisAlaNHOH, primer

Imidazoltartalmú monohidroxámsavak oldatbeli kölcsönhatása Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -ionokkal

peptidhidroxámsavak (a hidroxamát-N-en hidrogén szubsztituenst hordoznak). Az olaszországi együttműködő laboratóriumban az *N*-Me-származékok közül, a szintézis során fellépő tisztítási és még inkább stabilitásbeli problémák miatt, csak a HisAlaN(Me)OH-t sikerült előállítani. Ez esetben is a számtalan kísérlet mindössze néhány mg anyagot eredményezett, így csak a Cu^{2+} -tartalmú rendszerekre történt néhány vizsgálat, melyek közelítő eredményeket szolgáltatnak, mivel 2-3 nap alatt ez a ligandum oldatban elbomlott.

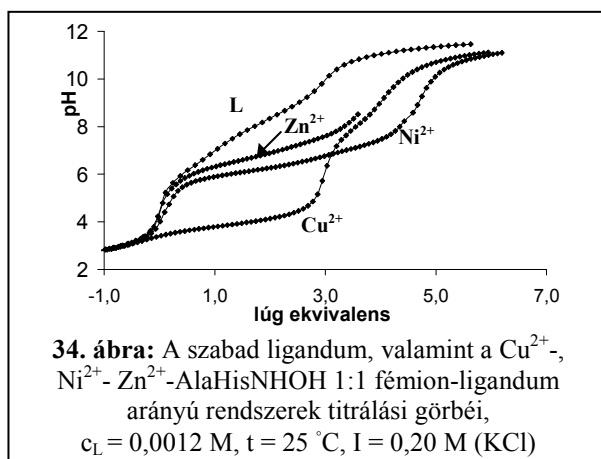
Ezen rendelkezésünkre álló molekulákkal a korábbi, hisztidintartalmú peptidek és koordinálódásra nem képes oldalláncot tartalmazó peptidhidroxámsavak fémmegekötő sajátosságára alapozva, célunk volt azon hatás tanulmányozása, hogy az erős fémmegekötő imidazol-oldallánc jelenléte különböző helyzetben egy peptidhidroxámsav származékában milyen irányban és hogyan változtatja a 12. ábrán ismertetett jellemző kötőmódokat. Válaszokat kerestünk ezzel párhuzamosan arra is, hogy hogyan módosulnak a 11. ábrán bemutatott jellemző koordinációs módok egy hidroxámsavcsoport hisztidintartalmú peptidbe való beépítésével. Mindezek mellett jól ismert, hogy a peptidcsoport(ok) nagyon sok esetben fontos fémionmegekötő-csoportnak mutatkoznak egy potenciális hidroxamát-alapú inhibítor molekula esetén, mely(ek) másodlagos kötések kialakításával az inhibíció szelektivitásában meghatározó szerepet játszhat(nak).

Az eredményeket molekulánként, elsőként a C-terminális aminosav részen imidazolcsoportot tartalmazóak (AlaHisNHOH, AlaAlaHisNHOH) fémmegekötő sajátosságát ismertetjük, majd pedig az imidazolcsoportot az N-terminális részen tartalmazó származékok (HisAlaNHOH, HisAlaN(Me)OH) koordinációs képességét összegezzük. A kapott eredményeket minden esetben összevetjük a korábbi fentebb említett hisztidintartalmú peptidek és egyszerűbb peptidhidroxámsavak eredményeivel.

4.4.1. A Cu^{2+} -, Ni^{2+} -, Zn^{2+} -AlaHisNHOH rendszerek

A pH-potenciometriás módszerrel regisztrált titrálási görbék közül egy kiválasztott fémion-ligandum aránynál (1:1) mutat a 34. ábra reprezentatív példát mindhárom fémion esetén. Ezen titrálási görbékről megállapítható, hogy a Cu^{2+} -tartalmú rendszerben a komplexképződés pH ~ 3 felett indul és pH ~ 6-ig három

ekvivalens protonleszorítás történik, de pH = 6 - 8 között egy újabb, negyedik



lúgfogyasztó folyamat is megfigyelhető. A Ni^{2+} -ligandum kölcsönhatás pH ~ 4,0 körül indul, de szemben a Cu^{2+} -tartalmú rendszerrel itt kooperatív folyamatokban összesen öt ekvivalens lúg fogy. A Zn^{2+} -tartalmú rendszerben, ahol pH = 5,5-től figyelhető meg mérhető komplexképződés, három

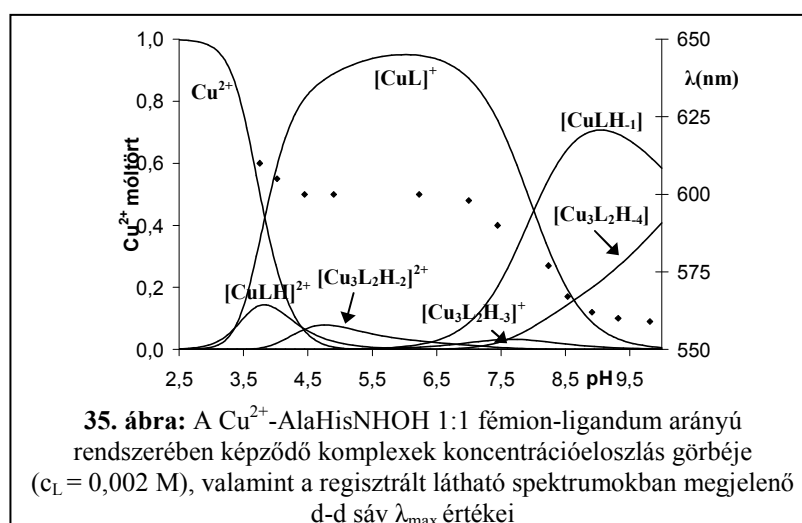
ekvivalens protonleszorítás után pH = 8 felett csapadékképződést tapasztaltunk. Az itt be nem mutatott, ligandumfelesleg (1:2 arány) alkalmazása mellett felvett titrálási görbék nem utalnak ligandum-felesleggel mérhető kölcsönhatásra, ezzel szemben a fémfelesleg (1,5:1 arány) mellett regisztrált görbék a Cu^{2+} -ion esetén teljes fémmegekötődést mutatnak, míg a másik két ionnál a fémion felesleg hidrolízise következett be. A titrálási görbék illesztésével a fémkomplexekre számolt stabilitási állandókat a 7. táblázat mutatja.

7. táblázat: A Cu^{2+} -, Ni^{2+} -, Zn^{2+} -AlaHisNHOH rendszerekben képződő komplexek stabilitási állandói ($\log \beta$), $t = 25^\circ \text{C}$, $I = 0,20 \text{ M}$ (KCl)

ligandum	komplex	Cu^{2+}	Ni^{2+}	Zn^{2+}
		$\log \beta$		
AlaHisNHOH	$[\text{MLH}_2]^{3+}$	-	19,71(6)	-
	$[\text{MLH}]^{2+}$	17,59(7)	-	12,88(5)
	$[\text{ML}]^+$	14,23(1)	7,85(4)	6,16(4)
	$[\text{MLH}_{-1}]$	6,22(7)	0,81(5)	-1,25(3)
	$[\text{MLH}_2]^-$	-	-7,31(6)	-
	$[\text{ML}_2]$	-	13,5(2)	-
	$[\text{M}_3\text{L}_2\text{H}_2]^{2+}$	24,7(1)	-	-
	$[\text{M}_3\text{L}_2\text{H}_3]^+$	17,9(2)	-	-
	$[\text{M}_3\text{L}_2\text{H}_4]$	10,3(2)	-	-

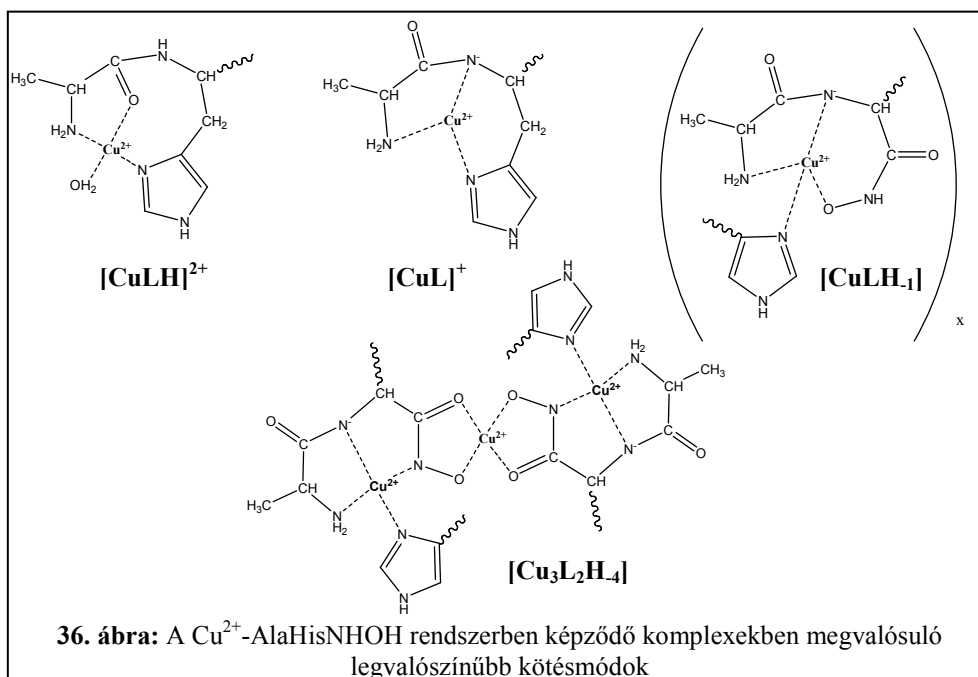
Imidazoltartalmú monohidroxámsavak oldatbeli kölcsönhatása Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -ionokkal

A stabilitási állandókból szerkesztett koncentrációeloszlás görbék közül reprezentatív példaként 1:1 fémion-ligandum aránynál a Cu^{2+} -tartalmú rendszerben képződő komplexek eloszlása, valamint az ugyanilyen arány mellett regisztrált UV-Vis spektrumban megjelenő d-d sáv λ_{max} értékei, a 35. ábrán láthatóak.



Ahogy a 34. ábrabeli titrálási görbéről és a 35. ábrabeli koncentrációeloszlásból is jól látszik, a Cu^{2+} -AlaHisNHOH közötti kölcsönhatás pH ~ 3 felett a kis arányban megjelenő $[\text{CuLH}]^{2+}$ összetételű részecske képződésével indul, feltehetően a ligandum az amino-N-je mellett az imidazol-N(3) koordinálódik a fémionhoz a 36. ábrán szemléltetett módon, de a peptidcsoport karbonil-oxigénjének gyenge kötődése is valószínűsíthető. Az ezen komplexben nem koordinálódó hidroxámsavcsoport hordozza a disszociálható protont, ugyanis az UV-látható spektrumban a hidroxamát-oxigének koordinációjára jellemző töltésátviteli sáv ($\lambda_{\text{max}} \sim 380 \text{ nm}$ -nél) csak pH = 6 felett, a titrálási görbén a negyedik lúgfogyasztó folyamat indulásával jelentkezik, valamint az 1:1 fémion-ligandum aránynál regisztrált CD görbék sem mutatnak mérhető Cotton-effektust e részecske képződési tartományában. A rendszerben megjelenő első igazán domináns részecske a $[\text{CuL}]^+$, mely viszonylag széles pH tartományban létezik, és amelyben az imidazol-N(3) és amino-N mellett a peptid-N is részt vesz a fémion megkötésében, míg a negyedik koordinációs helyen feltehetően egy vízmolekula található (36. ábra). Mivel a hidroxámsavcsoport még protonált formában van a $[\text{CuL}]^+$ részecske formálisan $[\text{Cu}(\text{LH}_1)\text{H}]^+$ összetétellel írható fel. A regisztrált

UV-látható spektrumok PSEQUAD programmal történő felbontásából a $[\text{CuL}]^+$ részecske egyedi spektruma ($\lambda_{\text{max}} = 600 \text{ nm}$, $\varepsilon \sim 65 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) jó egyezést mutat a Cu^{2+} -GlyHis rendszerben ugyanezen donoratomok koordinációjakor regisztrált d-d sáv λ_{max} értékével [133], valamint az $[\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}_{\text{imid}}]$ keláttra a Sigel-Martin féle ((6) egyenlet) számolt λ_{max} érték is ($\sim 598 \text{ nm}$) megerősíti megállapításunkat.



A pH-metriás kísérleti adatok tökéletes illesztéséhez elegendő volt a 7. táblázatban szereplő komplexeket befoglalni az oldategyensúlyi modellbe, mely nem-protonált 1:1 arányú komplexként az ESI-MS eredményekkel is igazolt ($m/z = 303$) $[\text{CuL}]^+$ részecskét tartalmazta. Ugyanakkor, a regisztrált ESI-MS spektrumban 605 m/z értéknél egy dimer komplex jelenléte is megfigyelhető, mindemellett az 1:1 fémion-ligandum aránynál, Olaszországban elkészült ESR mérések is utalnak pH $\sim 6,9$ -nél egy monomer-dimer egyensúlyra, de a spektrum részletes felbontását nem készítették el. Ezen dimer komplex feltehetően $[(\text{CuLH}_1)(\text{CuL})]^+$ összetételnek felelhet meg, melyben az egyik lehetségesen kialakuló kötőmód úgy képzelhető el, hogy a 36. ábrabeli $[\text{CuL}]^+$ részecske nem koordinált, szabad hidroxámsavcsoportja, miután deprotonálódik, hídként képes kötődni egy másik, szomszédos $[\text{CuL}]^+$ komplex negyedik, szabad koordinációs helyére.

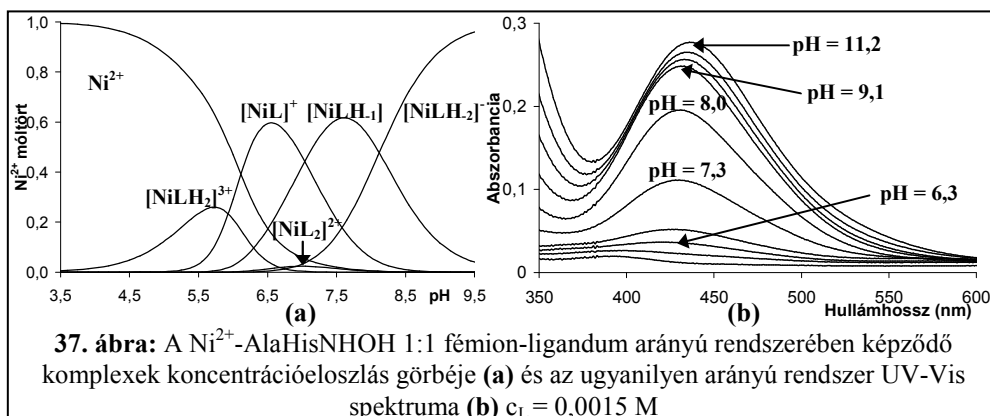
A $[\text{CuLH}_1]$ képződésével párhuzamosan, $\text{pH} \sim 6,0$ felett, a titrálási görbén (34. ábra) a negyedik lúgfogyasztó folyamat indulásával, a hidroxamát-koordinációra jellemző töltésátviteli sáv megjelenik, mely a képződő részecskében már a hidroxamát-oxigén részvételére is utal. Mindezek mellett az UV-látható spektrumban jelentkező d-d sáv, ahogy a 35. ábrán a koncentrációeloszlás görbén is látszik, $\lambda_{\text{max}} = 600 \text{ nm}$ -ről $\lambda_{\text{max}} = 558 \text{ nm}$ -re csúszik. Mind a $[\text{CuLH}_1]$ egyedi spektrumának paraméterei ($\lambda_{\text{max}} = 560 \text{ nm}$, $\varepsilon \sim 115 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$), mind a (6) egyenlet által számolt hullámhossz érték ($\lambda \sim 565 \text{ nm}$) az $[\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}_{\text{imid}}, \text{O}_{\text{hidr}}]$ donortomok koordinációjára utalnak. Mivel ezen donortomok egyidejű koordinációja monomer komplexben nem lehetséges, ezért a részecske $[\text{CuLH}_1]_x$ összetétellel adható meg pontosabban, de az 1:1 fémion-ligandum aránynál regisztrált ESR méréseink is $\text{pH} = 8,4$ -nél ESR csendes részecske jelenlétére utalnak. A komplex kötőmódja, melyet a 36. ábra szemléltet, legvalószínűbben úgy képzelhető el, hogy egy ligandum amino-N-je, deprotonált peptid-N-je és hidroxamát-O-je koordinálódik egy fémionhoz és a negyedik szabad koordinációs helyre egy másik ligandum imidazol-N(3)-je hídként képes kötődni.⁴

Hasonlóan a Cu^{2+} -AlaAlaNH₂ rendszerhez, trinukleáris részecskék az AlaHisNH₂-val is képződnek, bár 1:1 fémion-ligandum aránynál mennyiségük nem olyan számottevő, mint az AlaAlaNH₂ esetén megfigyelhető volt [40]. Képződésükre egyrészt az utal, hogy az AlaHisNH₂ is képes Cu^{2+} -ion felesleget megkötni, másrészt az 1,5:1 aránynál regisztrált CD spektrumokban a hidroxamát-O-ek koordinációjára utaló CD sáv (350 (+) nm-nél) mellett a hidroxamát-N-ek jellemző sávja is (430 (+) nm-nél) megjelenik $\text{pH} \sim 9,0$ felett [40]. A trinukleáris komplex legvalószínűbb kötőmódját a 36. ábra mutatja.

A Ni^{2+} -tartalmú rendszerekben, ahogy a koncentrációeloszlás görbe is szemlélteti a 37./a ábrán, szinte kizárólag monomer komplexek képződnek. A fémion-ligandum kölcsönhatás $\text{pH} \sim 4$ felett a $[\text{NiLH}_2]^{3+}$ összetételű részecskével

⁴ Egy másik elképzelhető kötőmód megvalósulhatna úgy is, hogy a ligandum $[\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}_{\text{imid}}]$ donortomjain kötné a fémiont, és a negyedik helyre egy másik ligandum hidroxamát-[O,O]-kelátja axiális-ekvatoriális helyzetben kötődne, de ez korábbi eredményeink alapján egy ún. vörös eltolódást okozna a látható spektrumban, ami a jelen rendszerben nem figyelhető meg [53, 95]. Ennek eredményeként e lehetőség nem jöhet szóba.

indul feltehetően monodentát imidazol-N(3) koordinálódásával, de a peptidcsoport karbonil-oxigénje is részt vehet a kötésben.



A részecske kötésmódját a stabilitási állandójából a hidroxámsav- és ammóniumcsoportok pK_s értékeinek levonása után a származtatott érték is valószínűsíti ($19,71 - 7,72 - 8,82 = 3,17$), mely közel jó egyezésben van a Ni^{2+} -imidazol rendszer esetén képződő $[\text{NiL}]$ komplex stabilitási állandójával (Ni^{2+} -imidazol: $\log \beta_{[\text{NiL}]} = 3,09$) [134].⁵ A pH emelésével két disszociálisan proton kooperatív módon történő elvesztése után képződő $[\text{NiL}]^+$ részecskében hasonló koordinációs mód állapítható meg, mint az a Ni^{2+} -GlyHis rendszerben képződő $[\text{NiLH}_1]$ részecskében kialakul, csak jelen esetben a hidroxámsavcsoport még protonált [135]. Az $[\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}_{\text{imid}}]$ kelát kialakulását támasztja alá az is, hogy ha a Ni^{2+} -GlyHis rendszerben képződő $[\text{NiLH}_1]$ komplex stabilitási állandójához még a hidroxamát pK -t hozzáadjuk, akkor a kapott érték ($-1,35 + 8,82 = 7,47$) hasonló, mint a 7. táblázatban a $[\text{NiL}]^+$ részecskére meghatározott állandó [135]. (Hasonlóan a lábjegyzetben említett okok miatt, a származtatott állandó ($\sim 7,47$) csak közelítőleg adható meg.) A pH ~ 6 -ig képződő komplexek, ahogy a 37./b ábrán az UV-látható spektrum is mutatja, oktaéderes geometriájúak. A $[\text{NiLH}_1]$ komplex képződésével párhuzamosan, a minta színének sárgára változásával a spektrumban geometriaváltás figyelhető meg, egy $\lambda_{\text{max}} = 425 \text{ nm}$ -nél megjelenő, egyre nagyobb intenzitású töltésátviteli sáv kinövése következik be, mely síknégyzetes részecskék

⁵ Mivel a pH-potenciometria által a ligandumra meghatározott pK_s értékek nem az individuális csoportokhoz rendelhető mikroállandók, hanem makroállandók, ezért a származtatott érték ($\sim 3,17$) csak közelítőleg adható meg.

Imidazoltartalmú monohidroxámsavak oldatbeli kölcsönhatása Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -ionokkal

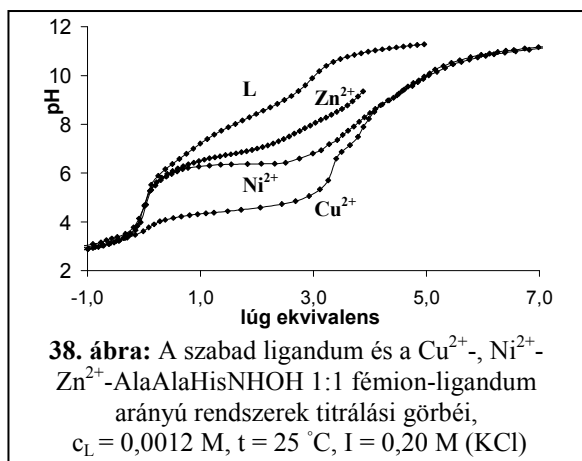
képződésére utal. Ez a változás eltérést mutat a Ni^{2+} -GlyHis rendszerhez képest, ahol $\text{pH} \sim 8$ -ig csak oktaéderes mono- és biszkomplexek képződnek [135], de jó egyezést mutat a Ni^{2+} -AlaAlaNH₂ rendszerben megfigyelt tapasztalatokkal, ahol az $[\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}_{\text{hydr}}]$ donorok részvételével planáris komplex alakul ki [40]. Mindezen eredmények valószínűsítik, hogy jelen esetben is az utóbbi, $[\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}_{\text{hydr}}]$ -kelát kialakulása valószínűsíthető a $[\text{NiLH}_1]$ részecskében (az UV-Vis spektrum PSEQUAD programmal történő felbontásából a részecskére számolt egyedi spektrum $\lambda_{\text{max}} = 425 \text{ nm}$, $\epsilon \sim 105 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). A pH emelésével ($\text{pH} \sim 9$ felett), ahogy a 37./b ábra is mutatja, egy $\sim 8 - 10 \text{ nm}$ -es eltolódás figyelhető meg a nagyobb hullámhosszak felé, ami valószínűsíti, hogy a negyedik koordinációs helyen lévő víz deprotonálódásával $[\text{NiLH}_1(\text{OH})^-]$ vegyes hidroxó komplex képződik, ami formálisan $[\text{NiLH}_2]^-$ összetételnek felel meg. (A részecske egyedi spektruma: $\lambda_{\text{max}} = 435 \text{ nm}$, $\epsilon \sim 180 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.)

A leggyengébb kölcsönhatás a Zn^{2+} -tartalmú rendszerben állapítható meg, a komplexképzés $\text{pH} \sim 5,50$ felett indul, ahogy a titrálási görbe is mutatja, de még ligandumfelesleg esetén is $\text{pH} \sim 8$ felett csapadékleválás tapasztalható, ezért a titrálási görbéket viszonylag szűk pH tartományban lehetett illeszteni. A kapott oldategyensúlyi modellt a 7. táblázat foglalja össze, ahol látható, hogy mindössze három részecskére lehetett stabilitási állandót meghatározni. Az NMR méréseink, melyeket a kötémódok felderítése érdekében végeztünk, kötési izomerek jelenlétére utalnak, hasonlóan, mint az a Zn^{2+} -AlaAlaNH₂ rendszerben megállapítható volt [40], a képződő részecskékben a Zn^{2+} -ion feltehetően a hidroxamát- $[\text{O},\text{O}]^-$, vagy $[\text{NH}_2, \text{CO}]$ -kelátja révén kötődik a ligandumhoz. A peptidcsoport deprotonálódására utaló jelet nem tapasztaltunk.

4.4.2 A Cu^{2+} -, Ni^{2+} -, Zn^{2+} -AlaAlaHisNH₂ rendszerek

A tripeptidhidroxámsav, valamint a három fémion jelenlétében 1:1 fémion-ligandum aránynál regisztrált titrálási görbéket a 38. ábra mutatja. Látható az ábráról, hogy a Cu^{2+} -ionnal a kölcsönhatás $\text{pH} \sim 3$ felett indul, és a ligandum mindhárom disszociálható protonját már $\text{pH} \sim 5,5$ -re elveszíti, de a pH további emelésével két újabb lúgfogyasztó folyamat, feltehetően a peptid-NH-k

deprotonálódása, történik. A Ni^{2+} -tartalmú rendszerben a kölcsönhatás $\text{pH} \sim 5,5$



felett kezdődik és hasonlóan más Ni^{2+} -tripeptidhidroxámsav rendszerekhez az egyensúly nagyon lassan állt be. A Zn^{2+} esetén, egyezésben az AlaHisNHOH rendszerben tapasztaltakkal, $\text{pH} = 6 - 8,5$ között volt oldatbeli kölcsönhatás így ezen tartományban lehetett a titrálási görbék illeszteni az oldategyensúlyi

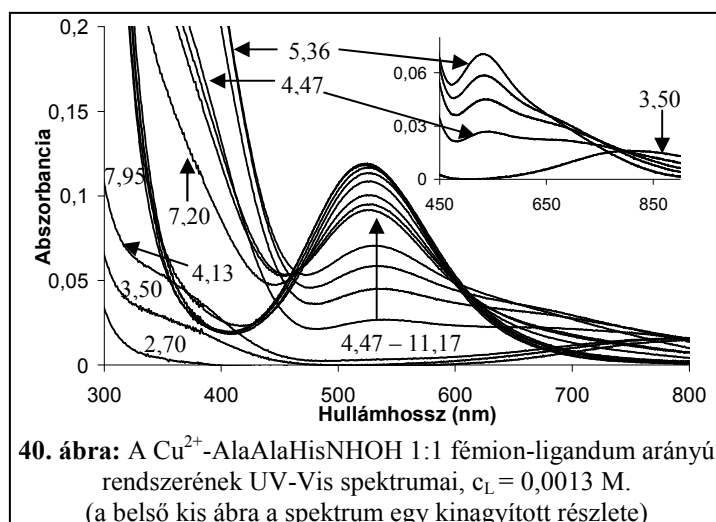
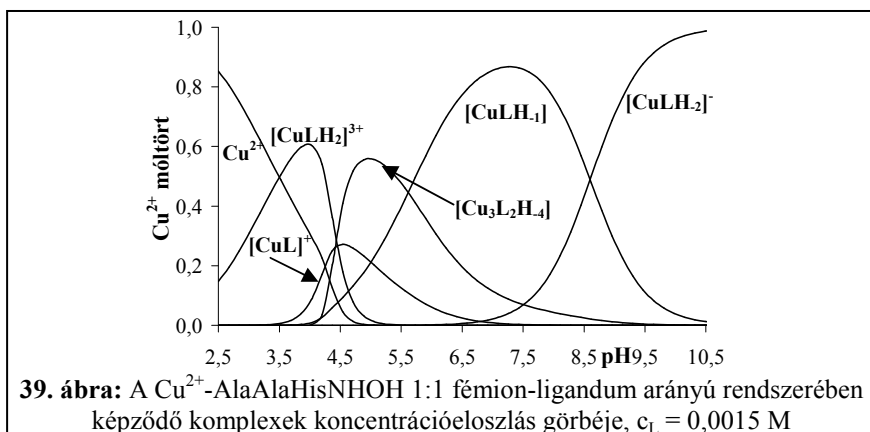
modell megalkotásához, melyet a 8. táblázat foglal össze mindhárom rendszerre.

8. táblázat: A Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -AlaAlaHisNHOH rendszerekben képződő részecskék stabilitási állandói ($\log \beta$), $t = 25^\circ \text{C}$, $I = 0,20 \text{ M (KCl)}$

ligandum	komplex	Cu^{2+}	Ni^{2+}	Zn^{2+}
		$\log \beta$		
AlaAlaHisNHOH	$[\text{MLH}_2]^{3+}$	22,6(1)	-	-
	$[\text{ML}]^+$	13,7(1)	7,34(6)	5,67(4)
	$[\text{MLH}_{-1}]$	8,7(3)	0,39(9)	-3,35(7)
	$[\text{MLH}_2]^-$	0,1(3)	-8,9(1)	-
	$[\text{M}_3\text{L}_2\text{H}_4]$	16,5(2)	-	-

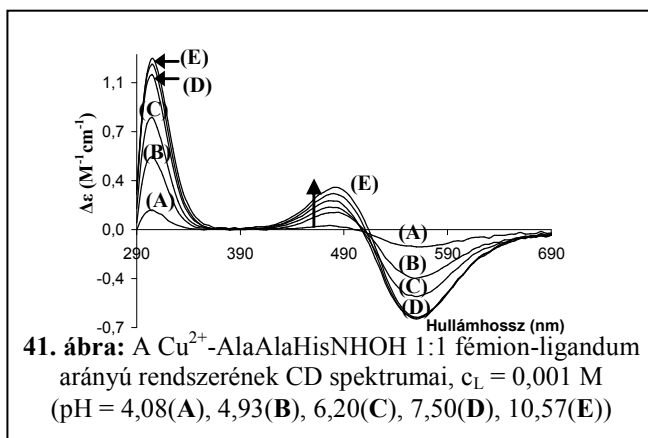
Ahogy a modellekből is látszik, döntően 1:1 fémion-ligandum arányú komplexek képződnek, mérhető kölcsönhatás ligandumfelesleggel nem figyelhető meg, de a Cu^{2+} -tartalmú mintákban fémfelesleg megkötés, hasonlóan a Cu^{2+} -AlaHisNHOH rendszerekben tapasztaltakkal, megállapítható.

A stabilitási állandók segítségével számolt koncentrációeloszlás görbék közül reprezentatív példaként a Cu^{2+} -tartalmú, 1:1 fémion-ligandum arányú rendszerre vonatkozót a 39. ábra szemlélteti. A komplexek kötésmódjainak feltérképezésére UV-látható és CD méréseket végeztünk, a regisztrált spektrumokat 1:1 fémion-ligandum aránynál elsőként a Cu^{2+} - rendszerekben a 40. ábra mutatja.



A Cu^{2+} -AlaHisNHOH rendszerrel ellentétben, ahol a hidroxamát-oxigének fémionhoz való kötődése csak $\text{pH} = 6$ felett következett be, jelen rendszer esetén $\text{pH} = 3,50$ -nél a hidroxamát-O koordinációjára utaló töltésátviteli sáv $\lambda_{\text{max}} \sim 350 \text{ nm}$ -nél már megfigyelhető (40. ábra). A képződő komplexek 39. ábrabeli koncentrációeloszlás görbéjével egyezésben, minden valószínűség szerint a $[\text{CuLH}_2]^{3+}$ összetételű részecskében a ligandum hidroxamát-[O,O]-kelátja révén köti a fémiont, az amino- és imidazolcsoportok még protonált formában vannak. Megfigyelhető továbbá, hogy ez a töltésátviteli sáv $\text{pH} = 5,36$ -ig fokozatosan növekvő, majd csökkenő intenzitású. Ez azt mutatja, hogy a hidroxamát-oxigének a $\text{pH} = 5,36$ felett fokozatosan szorulnak ki a Cu^{2+} -ion koordinációs szférájából és

pH $\sim 7,95$ -re ezek teljes kiszorítása meg is történik. A töltésátviteli sáv mellett pH = 4-ig a d-d sáv $\lambda_{\max}$ értéke ~ 750 nm-nél van (40. belső kis ábra) (a Sigel-Martin féle (6) egyenlet alapján a mono-[O,O]-kelátra számolt $\lambda_{\max} \sim 740$ nm). A belső kinagyított spektrumrészlet jól mutatja azt is, hogy a pH emelésével (pH $\sim 4 - 5,4$ között) két sáv, egy $\lambda_{\max} \sim 665$ nm-nél és egy $\lambda_{\max} = 525$ nm-nél lévő, fed át egymással, de pH = 5,4 felett már csak a $\lambda_{\max} = 525$ nm-nél lévő és pH = 7,5-ig egyre növekvő intenzitású d-d sáv jelenléte figyelhető meg. A $\lambda_{\max} \sim 665$ nm-nél lévő sáv a $[\text{CuL}]^+$ részecske képződési pH tartományában figyelhető meg, mely jó egyezésben a (6) egyenlet alapján elvégzett számolással is, a részecskében az $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{imid}}, 2 \text{ CO}]$ kelát kialakulását támasztja alá. A komplex jelenlétét pH ~ 4 -nél ESI-MS méréseink is igazolják 374 m/z értéknél. A pH = 4-től $\sim 7,5$ -ig fokozatosan növekvő intenzitású, $\lambda_{\max} = 525$ nm-nél jelentkező sáv, parallel a $[\text{CuLH}_{-1}]$ komplex képződésével már 4N-es koordináció kialakulását támasztja alá. Ezzel párhuzamosan a regisztrált CD görbék is, melyeket a 41. ábra mutat, szintén elérik



pH = 7,5-ig a maximumot, és látható, hogy pH = 11-ig, hasonlóan az UV-látható spektrumokkal, nem is mutatnak semmilyen eltolódást. Az UV-látható és CD spektrumok felbontásából nyert spektrális paramétereket a 9. táblázat foglalja össze. A

táblázat a Cu^{2+} -AlaAlaHis rendszerben képződő $[\text{CuLH}_2]$ komplex spektrális paramétereit is mutatja, mely részecskében az $[\text{NH}_2, \text{N}', \text{N}', \text{N}_{\text{imid}}]$ donortatomok koordinálódása következik be [99]. A spektrális adatok szinte teljes egyezése alátámasztja, hogy a Cu^{2+} -AlaAlaHisNHOH rendszerben képződő $[\text{CuLH}_{-1}]$ részecskében ugyanazon koordinációs mód állapítható meg, mint a megfelelő Cu^{2+} -tripeptid rendszerben.⁶ A kialakult kelát szerkezete a 11./b ábrán látható.

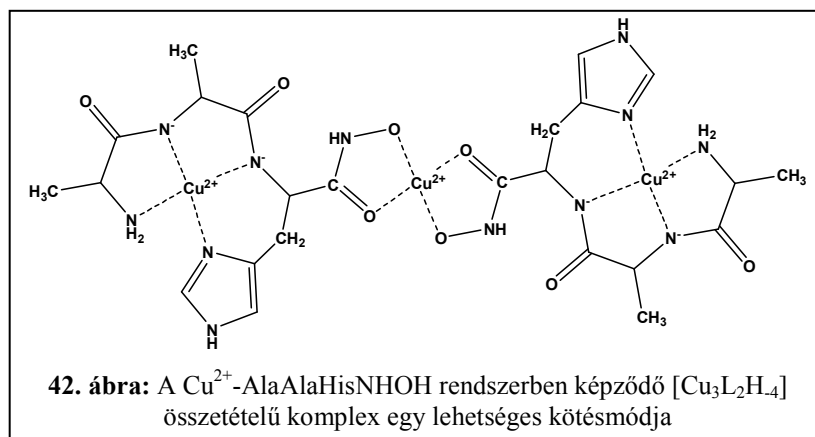
⁶ A Cu^{2+} -AlaGlyGlyNHOH rendszerben, ahol a $[\text{CuLH}_{-1}]$ részecskében a ligandum $[\text{NH}_2, \text{N}', \text{N}', \text{N}_{\text{hidr}}]$ kelátja révén köti a fémiont, az UV-Vis spektrumban a $\lambda_{\max} = 500$ nm [41-42].

Imidazoltartalmú monohidroxámsavak oldatbeli kölcsönhatása Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -ionokkal

9. táblázat: A Cu^{2+} -AlaAlaHis rendszerben képződő $[\text{CuLH}_2]$ és a Cu^{2+} -AlaAlaHisNHOH rendszerben jelen lévő $[\text{CuLH}_1]$ összetételű komplexek egyedi spektrális paraméterei

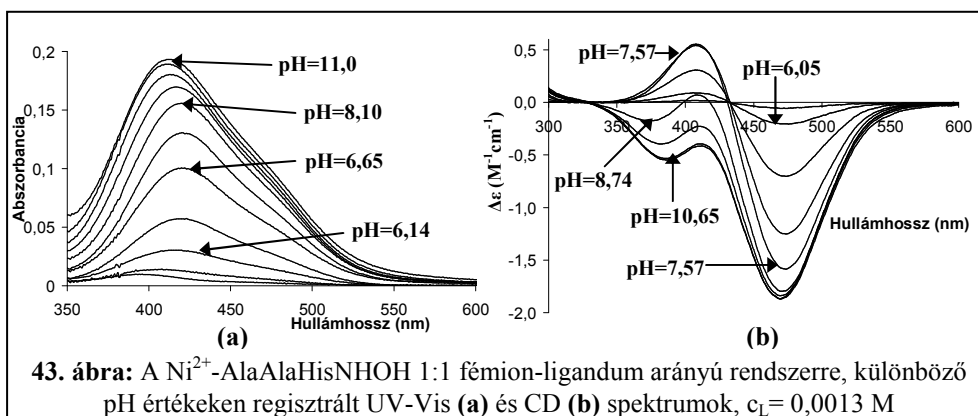
ligandum	komplex	koordinálódó donoratom	$\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)	
			UV-Vis	CD
AlaAlaHis	$[\text{CuLH}_2]$	$[\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}^-, \text{N}_{\text{imid}}]$	522 (101)	476 (+0,18) 554 (-0,93)
AlaAlaHisNHOH	$[\text{CuLH}_1]$	$[\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}^-, \text{N}_{\text{imid}}]$	525 (120)	477 (+0,17) 560 (-0,60)

A köztes, pH = 4,5 – 6,5 tartományban, ahogy a 39. ábra is mutatta, trinukleáris részecske képződése is megfigyelhető, melyben feltehetően egy harmadik Cu^{2+} -ion a hidroxamát-[O,O]-kelátok által koordinálva kapcsol össze két $[\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}^-, \text{N}_{\text{imid}}]$ donoratomok által megkötött fémiont tartalmazó monomer egységet a 42. ábrán szemléltetett módon.



A Ni^{2+} -ionnal a komplexképzés pH ~ 5,5 felett indul és ezzel párhuzamosan a detektált UV-látható spektrumok planáris komplex képződést támasztják alá, valamint a minta színének sárgára változása is erre utal. A különböző pH-n regisztrált UV-látható spektrumokat a 43./a ábra mutatja. Látható, hogy pH = 6 felett egy $\lambda_{\text{max}} = 420$ nm-nél megjelenő, növekvő intenzitású d-d sáv jelenik meg, mely pH = 8,10 felett $\lambda_{\text{max}} \sim 410$ nm-re csúszik.

A CD spektrumok is, melyeket a 43./b ábra szemléltet, pH ~ 8 felett más jelleget mutatnak, ami valamiféle koordinációs mód változására utalhat ezen pH felett.



A kapott spektrális adatokat összevetettük mind a Ni^{2+} -GlyGlyHis rendszerben [98, 136], mind a Ni^{2+} -AlaGlyGlyNHOH rendszerben [41-42] képződő $[\text{NiLH}_2]$ komplexek spektrális adataival, melyek közül az előbbi rendszerben a legnagyobb stabilitású komplexben az $[\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}^-, \text{N}_{\text{imid}}]$ donoratomok koordinálnak, az utóbbiban az $[\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}^-, \text{N}_{\text{hidr}}]$ -keláton kötődik a fémion a ligandumhoz. Az adatokat a jobb összevethetőség érdekében a 10. táblázatban foglaltuk össze.

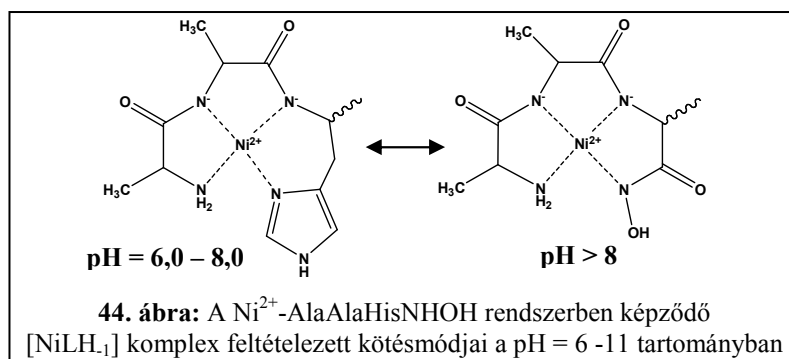
10. táblázat: A Ni^{2+} -GlyGlyHis, -AlaGlyGlyNHOH, és -AlaAlaHisNHOH rendszerekben képződő 4N-es komplexek spektrális paraméterei

ligandum	komplex	koordinálódó donoratom	$\lambda_{\text{max}}/\text{nm} (\epsilon/\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1})$			
			UV-Vis		CD	
GlyGlyHis	$[\text{NiLH}_2]$	$[\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}^-, \text{N}_{\text{imid}}]$	425 (141)	410 (+2,06)	469 (-1,85)	
AlaGlyGlyNHOH	$[\text{NiLH}_2]$	$[\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}^-, \text{N}_{\text{hidr}}]$	400 (200)	388 (-0,10)	485 (-0,15)	
AlaAlaHisNHOH	$[\text{NiLH}_1]$	$[\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}^-, \text{N}_{\text{imid}}]$	420 (120)	410 (+0,85)	470 (-1,50)	pH = 6-8
		$[\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}^-, \text{N}_{\text{hidr}}]$	410 (180)	390 (-0,50)	471 (-1,00)	pH > 8

Az eredményeket elemezve megállapítható, hogy az általunk tanulmányozott tripeptidhidroxámsavval a pH = 6 - 8 tartományban kialakuló síknégyzetes komplexben az $[\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}^-, \text{N}_{\text{imid}}]$ donoratomok koordinációja következik be, ugyanis a paraméterek teljes egyezést mutatnak a Ni^{2+} -GlyGlyHis rendszerben képződő, ugyanilyen koordinációs módú részecskéjével [98, 136]. A pH emelésével viszont (pH = 8 felett) a koordináció az imidazol-N(3)-ről fokozatosan a hidroxamát-N-re tevődik át, mely megállapításunkat a spektrális paraméterek jó

Imidazoltartalmú monohidroxámsavak oldatbeli kölcsönhatása Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -ionokkal

egyezése támaszt alá a Ni^{2+} -AlaGlyGlyNHOH rendszerben képződő $[\text{NiLH}_2]$ összetételű részecske adataival, ahol az $[\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}^-, \text{N}_{\text{hidr}}]$ donoratomok részvételével kötődik a fémion a ligandumhoz [41-42]. A kialakuló kötési izomereket a 44. ábra szemlélteti. Ezen tanulmányozott Ni^{2+} -AlaAlaHisNHOH rendszerben tehát a $[\text{NiLH}_1]$ összetételhez kétféle kötésmódú részecske tartozhat, de ezen kötési izomerek egyensúlya $\text{pH} = 8,0$ felett a hidroxamát-N-t magában foglaló kötésmód felé tolódik el.

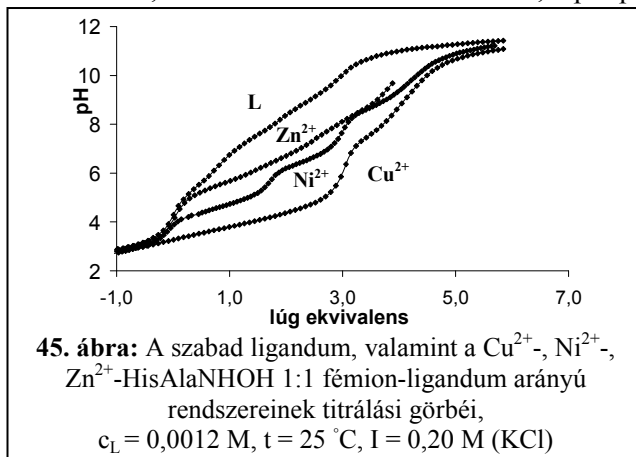


A Zn^{2+} -tartalmú rendszerekben mindössze két részecskére lehetett stabilitási állandót meghatározni a csapadékleválás miatt a titrálási görbék szűk pH tartományban való illesztésével, még ligandumfelesleg (1:2 arány) esetén is $\text{pH} = 8,5$ felett csapadék jelent meg. Hasonlóan a Zn^{2+} -AlaHisNHOH rendszerben képződő komplexekhez, NMR méréseink kötési izomerek kialakulását mutatják, ugyanis mind az amino-N, imidazol-N és hidroxamát-O donorok melletti nem disszociálós protonok kémiai eltolódás értékei is csekély eltérést mutatnak a fémiont is tartalmazó rendszerben a csak szabad ligandumot tartalmazó mintához képest. Az amid-N deprotonálódása szintén nem következik be. A $[\text{ZnLH}_1]$ részecske minden valószínűség szerint vegyes hidroxó komplex.

4.4.3. A Cu^{2+} -, Ni^{2+} -, Zn^{2+} -HisAlaNHOH és -HisAlaN(Me)OH rendszerek

A HisAlaNHOH és HisAlaN(Me)OH is (hasonlóan, mint az *N*-Me-Hisha) elkülönült kelátképző csoportot ($[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{imid}}]$ és $[\text{O}, \text{O}]$) tartalmaznak a molekula két végén. E peptidszármazékok esetében azonban a két „terminális” kelátképző csoportot összekötő láncban egy peptidcsoport is megtalálható. Oldategyensúlyi

méréseinket, hasonlóan a korábbiakhoz, pH-potenciometriás titrálásokat indítottuk és a kapott



indítottuk és a kapott titrálási görbék közül a HisAlaNH₂OH esetén egy kiválasztott fémion-ligandum aránynál mutat be reprezentatív példát a 45. ábra mindhárom fémion rendszerében. A titrálási görbék jól látszik, hogy míg a kölcsönhatás Cu^{2+} -ionnal

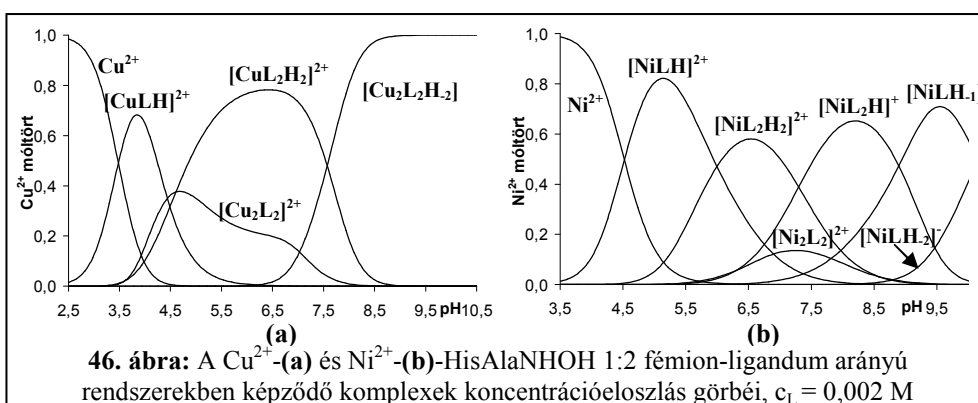
pH = 3 felett, addig a Ni^{2+} -ionnal pH = 4-től kezdődően indul és a ligandum mindhárom disszociálható protonja fémion indukáltan szorul le. Míg a Cu^{2+} -ion esetében egyértelműen jelentősen átfedő folyamatokban szorulnak le a protonok, addig a Ni^{2+} -iont tartalmazó rendszerben a harmadik folyamat elkülönül. Ezen túlmenően mindkét rendszerben egy extra lúgfogyasztó folyamat is bekövetkezik pH = 6 - 8 között. A legkisebb pH-effektus a Zn^{2+} -ionnal figyelhető meg, és hasonlóan a többi, jelen munka során tanulmányozott Zn^{2+} -peptidhidroxámsav rendszerekkel, a csapadékképződés pH = 8,5 felett itt is megjelenik. A görbék illesztésével kapott oldategyensúlyi modellt és a részecskék stabilitási állandóit a 11. táblázat tartalmazza. A táblázat mindemellett mutatja a Cu^{2+} -HisAlaN(Me)OH rendszerben képződő komplexek stabilitási állandóit is. Ahogy a 4.4. fejezet bevezetőjében említettük, a HisAlaN(Me)OH ligandumból mindössze néhány mg anyag állt rendelkezésünkre oldategyensúlyi vizsgálatainkhoz, melynek eredményeként csak néhány közelítő pH-potenciometriás és UV-látható spektrofotometriás vizsgálat készült el, az is csak a Cu^{2+} -ionnal.

11. táblázat: A Cu^{2+} -, Ni^{2+} -, Zn^{2+} -HisAlaNH₂OH és a Cu^{2+} -HisAla_N(Me)OH rendszerekben képződő komplexek stabilitási állandói ($\log \beta$), $t = 25^\circ\text{C}$, $I = 0,20\text{ M}$ (KCl)

ligandum	komplex	Cu^{2+}	Ni^{2+}	Zn^{2+}
		$\log \beta$		
HisAlaNH ₂ OH	$[\text{MLH}]^{2+}$	17,83(3)	15,77(2)	13,87(2)
	$[\text{M}_2\text{L}_2]^{2+}$	29,76(7)	21,18(1)	16,66(6)
	$[\text{MLH}_1]$	-	1,02(6)	-2,2(1)
	$[\text{M}_2\text{L}_2\text{H}_2]$	15,7(2)	-	-
	$[\text{MLH}_2]^-$	-	-9,13(8)	-
	$[\text{ML}_2\text{H}_2]^{2+}$	34,0(2)	29,6(1)	-
	$[\text{ML}_2\text{H}]^+$	-	22,3(1)	19,0(2)
HisAla _N (Me)OH	$[\text{MLH}]^{2+}$	17,53(3)		
	$[\text{M}_2\text{L}_2]^{2+}$	29,46(6)		
	$[\text{MLH}_1]$	3,89(6)		
	$[\text{ML}_2\text{H}_2]^{2+}$	32,9(2)		

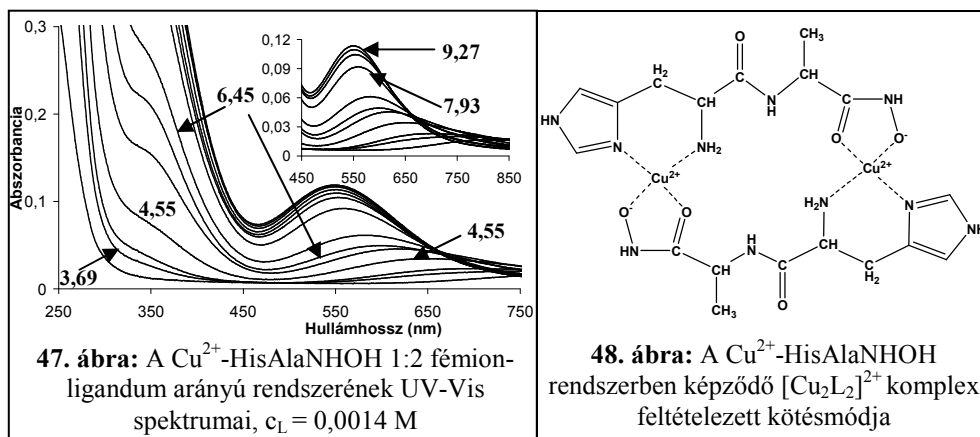
Ahogy a 11. táblázat mutatja, szemben a másik két korábban bemutatott peptidhidroxámsav rendszerrel, a HisAlaNH₂OH-val a monokelátos komplexek mellett biszkomplexek képződése, és mindhárom fémionnal a monomerek mellett egy dimer részecske, az $[\text{M}_2\text{L}_2]^{2+}$ jelenléte is megfigyelhető.

A Cu^{2+} - és Ni^{2+} -tartalmú rendszerekben 1:2 fémion-ligandum aránynál képződő komplexek koncentrációeloszlás görbéjét a 46. ábra szemlélteti.



A Cu^{2+} -tartalmú rendszerben az első mérhető koncentrációban megjelenő részecskében a spektrális paraméterek a hisztamin-típusú $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{imid}}]$ -keláton keresztüli kötődést támasztják alá. Nevezetesen, a $[\text{CuLH}]^{2+}$ részecske képződési

tartományában, az UV-látható spektrumban (47. ábra) jelentkező d-d sáv $\lambda_{\max} = 665\text{-}670\text{ nm}$ között mutatkozik, mely jó egyezésben van a (6) egyenlet alapján, egy $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{imid}}, 2 \text{H}_2\text{O}]$ koordinációját feltételezve számolt $\lambda_{\max} \sim 673\text{ nm}$ értékkel is.



A $[\text{CuLH}]^{2+}$ részecske mellett, a viszonylag széles pH-tartományban ($\text{pH} \sim 4 - 8$) és mintegy 80 %-ban jelenlévő $[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{2+}$ biszkomplexben is hisztamin-típusú koordináció valószínűsíthető. A részecske individuális spektruma $\lambda_{\max} = 600\text{ nm}$ ($\epsilon \sim 55\text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$), mely jó egyezésben van a (6) egyenlet alapján egy bisz- $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{imid}}]$ -kelátra számolt $\lambda_{\max}$ értékkel is ($\lambda_{\max} = 600\text{ nm}$). A hidroxamát-oxigének koordinációjára jellemző töltésátviteli sáv, ahogy a 47. ábra is jól szemlélteti, csak $\text{pH} \sim 3,7$ -től, a dimer részecske képződésével párhuzamosan mutatkozik. Feltehetően ezen dimer, $[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{2+}$ komplexben már mind a hidroxamát- $[\text{O}, \text{O}]$ - és a hisztamin-típusú $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{imid}}]$ -kelátok koordinációja a 48. ábrán szemléltetett módon következhet be. Ez a részecske $\text{pH} = 3,5 - 7,5$ tartományban, maximálisan kb. 35 %-ban van jelen a 46. ábrán megadott feltételek mellett. A pH emelésével ($\text{pH} = 6$ felett) párhuzamosan a titrálási görbén (45. ábra) is megfigyelhető új lúgfogyasztó folyamat indulásával, az UV-látható spektrumban mutatkozó d-d sáv $\lambda_{\max}$ értéke 600 nm -ről $\sim 550\text{ nm}$ -re csökken, valamint a regisztrált CD görbéken ezen hullámhossznál a deprotonált amid-N koordinálódására utaló sáv ($\lambda_{\max} \sim 550\text{ nm}(-)$) is megjelenik. Valamennyi említett paraméter hasonló a Cu^{2+} -AlaHisNH₂OH rendszerben képződő $[\text{CuLH}_1]_x$ összetételű komplexnél tapasztaltakkal (4.4.1. fejezet), melyek tehát az amino-N, amid-N, imidazol-N(3) és hidroxamát-O donoratomok koordinációját támasztják alá (36.ábra).

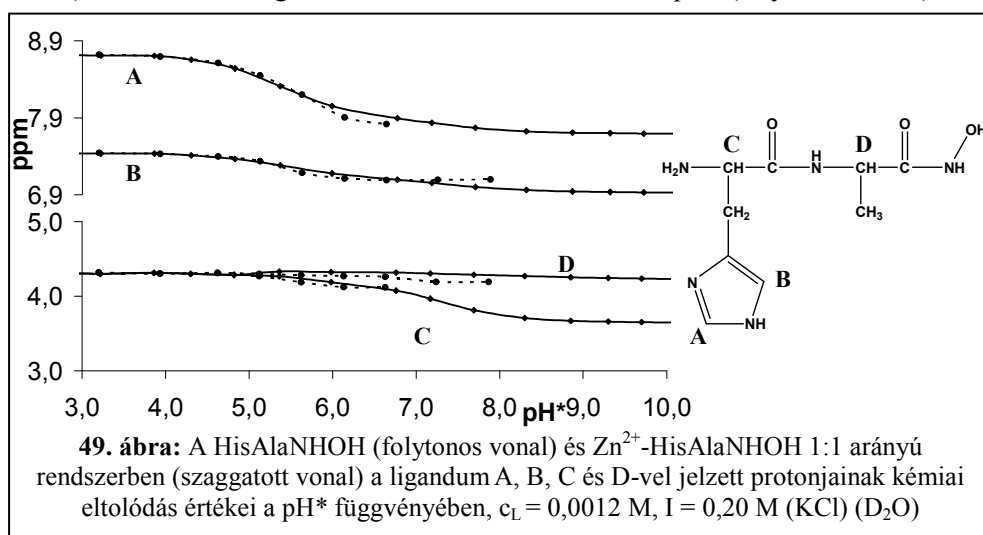
Imidazoltartalmú monohidroxámsavak oldatbeli kölcsönhatása Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -ionokkal

Összehasonlítva ezen ligandum Cu^{2+} -ionnal való komplexképző sajátosságát a Cu^{2+} -*N*-Me-Hisha rendszerben tapasztaltakkal, ahol szintén a hidroxamát-[O,O]- és $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{imid}}]$ -kelátok a ligandum két végén, elkülönülten helyezkednek el egymástól, megállapítható, hogy mindkét rendszerben a biszkomplexek képződése preferált. Főbb különbség mutatkozik viszont a $[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{2+}/[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{2+}$ arányban, ami jól látszik, ha összehasonlítjuk a 31./b és 46./a ábrákat. Nevezetesen, míg a Cu^{2+} -*N*-Me-Hisha rendszerben a dimer, $[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{2+}$ mennyisége dominánsabb a biszkomplexekhez képest, addig a Cu^{2+} -HisAlaNH₂OH rendszerben az arány éppen fordított.

A Ni^{2+} -tartalmú rendszer esetén $\text{pH} = 7 - 7,5$ -ig a spektrális paraméterek oktaéderes geometriájú komplexek jelenlétére utalnak. Mind a mono- $[\text{NiLH}]^{2+}$, mind a bisz- $[\text{NiL}_2\text{H}_2]^{2+}$ és $[\text{NiL}_2\text{H}]^{+}$ komplexekben a ligandum $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{imid}}]$ -kelátja révén koordinálódik a fémionhoz, míg a dimer $[\text{Ni}_2\text{L}_2]^{2+}$ részecskében a 48. ábrán bemutatott koordinációs mód feltételezhető. Az UV-látható spektrum $^1\text{A}_{1g} \rightarrow ^1\text{A}_{2g}$ és $^1\text{A}_{1g} \rightarrow ^1\text{B}_{1g}$ átmenetekhez rendelhető paraméterei a mono- $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{imid}}]$ -kelátra $\lambda_{\text{max}} \sim 390 \text{ nm}$ ($\epsilon \sim 8\text{-}10 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) és $\lambda_{\text{max}} \sim 640 \text{ nm}$ ($\epsilon \sim 3\text{-}5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$), míg a bisz- $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{imid}}]$ komplexre $\lambda_{\text{max}} \sim 370 \text{ nm}$ ($\epsilon \sim 13\text{-}15 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) és $\lambda_{\text{max}} \sim 570 \text{ nm}$ ($\epsilon \sim 5\text{-}8 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Az értékek jó egyezésben vannak a Ni^{2+} -hisztamin rendszer esetén ugyanezen donoratomok koordinálódásakor regisztrált paraméterekkel, ahol ezen kelátok fémionhoz való kötődése szintén oktaéderes komplexekben valósul meg [128]. A pH emelésével, $\text{pH} = 7 - 7,5$ felett, parallel a titrálási görbén az új lúgfogyasztó folyamat indulásával, a regisztrált UV-látható spektrumok is $\lambda_{\text{max}} = 435 \text{ nm}$ -nél síknégyszetes geometriájú komplex kialakulására utaló intenzív d-d sáv kinövését mutatják, valamint a minta színének sárgára változása is erre enged következtetni. Feltehetően az extra lúgfogyasztó folyamat az amid-N deprotonálódására és koordinálódására utal és a kialakuló $[\text{NiLH}_1]$ összetételű planáris komplexben a korábbi eredményeinkre [40] is alapozva, az $[\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}_{\text{hydr}}]$ donoratomok koordinációja valószínűsíthető.

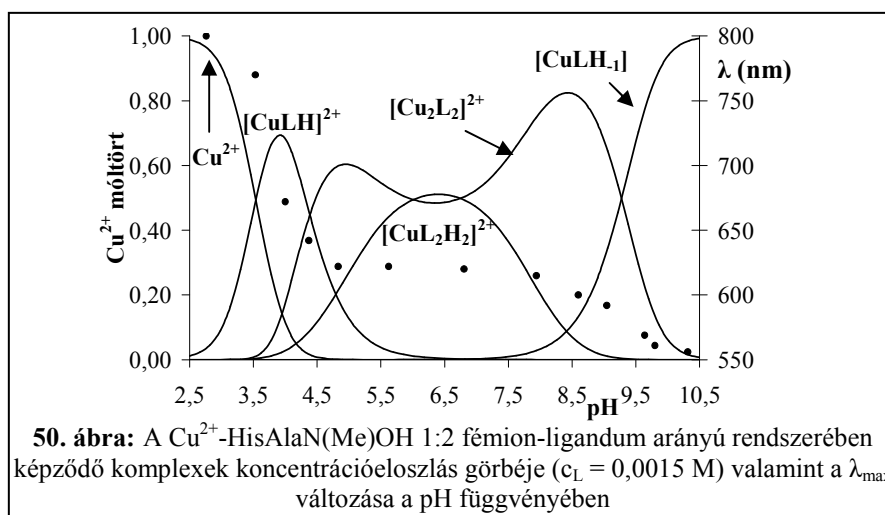
A pH-metriás mérések eredményei szerint (45. ábra) ezen ligandumnál is a Zn^{2+} -ionnal mutatkozik a leggyengébb kölcsönhatás, valamint a hidrolízist megelőzően nem figyelhető meg az amid-N deprotonálódása utaló folyamat. ^1H NMR méréseink eredményét, melyeket a kötémódok feltérképezése érdekében végeztünk, a 49. ábra foglalja össze. Jól látható, hogy a ligandum mind A, B, C és D-vel jelzett nem labilis protonjainak kémiai eltolódás értékei is $\text{pH} \sim 5,0$ felett,

ugyan kis mértékben, de elválnak a fémiont is tartalmazó mintában (szaggatott vonal) a csak szabad ligandumot tartalmazó mintához képest (folytonos vonal).



Ezen kísérleti eredmények, mind a hidroxamát-oxigének, mind az amino- és imidazol-nitrogének részvételével kialakuló kötési izomerek képződését támasztják alá pH = 5,5 - 8,5 tartományban.

Ahogy korábban említettük, a **Cu²⁺-HisAlaN(Me)OH** rendszer esetén csak néhány közelítő pH-potenciometriás és UV-látható spektrofotometriás mérés történhetett. Az itt be nem mutatott titrálási görbékből azért megállapítottuk, hogy a kölcsönhatás a Cu²⁺-ionnal pH ~ 2,5 felett indul, de 1:1 fémion-ligandum aránynál három ekvivalens protonleszorítás után pH ~ 8 felett csapadékleválás következik be. Az 1:2 ligandumfelesleg alkalmazása már visszaszorítja a hidrolízist és a ligandum valamennyi protonjának disszociációja után pH ~ 8,6 felett egy extra lúgfogyasztó folyamat indul. Minden valószínűség szerint a peptid-NH deprotonálódása következik be. Fémfelesleg megkötése nem volt megfigyelhető. A pH-potenciometriás görbék illesztésével kapott oldategyensúlyi modell a 11. táblázatban látható. A stabilitási állandókból szerkesztett koncentrációeloszlás görbék közül az 1:2 fémion-ligandum arányra vonatkozót, együtt a $\lambda_{\max}$ pH-szerinti változásával, az 50. ábra mutatja.



Összehasonlítva ezen ligandum Cu^{2+} -ion megkötő sajátosságát a megfelelő primer (HisAlaNHOH) származékával, megállapítható, hogy a komplexképződés indulásával a $[\text{CuLH}]^{2+}$ részecskében is hasonló, hisztamin-típusú koordinációs mód kialakulása következik be. Mindezen megállapításunkat az 1:2 fémion-ligandum aránynál regisztrált UV-Vis spektrumok is alátámasztják, ugyanis a $[\text{CuLH}]^{2+}$ részecske képződési tartományában az UV-Vis spektrumban jelentkező d-d sáv, ahogy az 50. ábra is mutatja, $\lambda_{\text{max}} \sim 670 \text{ nm}$ -nél mutatkozik, mely jó egyezésben van a (6) egyenlet alapján, egy $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{imid}}, 2 \text{ H}_2\text{O}]$ koordinációját feltételezve számolt $\lambda_{\text{max}} \sim 673 \text{ nm}$ értékkel. A hidroxamát-oxigének koordinációjára jellemző töltésátviteli sáv $\lambda_{\text{max}} \sim 350 \text{ nm}$ -nél csak $\text{pH} \sim 4,0$ -tól figyelhető meg, minden valószínűség szerint a dimer, $[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{2+}$ komplexben is, hasonlóan a Cu^{2+} -HisAlaNHOH rendszerben képződő $[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{2+}$ részecskével, a 48. ábrán feltüntetett koordinációs mód valósul meg. A peptid-NH deprotonálódása $\text{pH} \sim 8,5$ felett, feltehetően a $[\text{CuLH}_1]$ részecske képződésével következik be, amit alátámaszt a titrálási görbén az új lúgfogyasztó folyamat indulása e pH felett, mindemellett az UV-Vis spektrumban jelentkező d-d sáv is a kisebb hullámhosszak irányába tolódik ($\lambda_{\text{max}} \sim 560 \text{ nm}$ -ig), ami a nitrogének koordinációba való belépését támaszja alá. Minden valószínűség szerint a 36. ábrán feltüntetett kötési mód alakulhat ki.

Az UV-látható spektrofotometria mellett, melyek csak közelítő adatok, egyéb szerkezetvizsgáló módszerek (pl. CD, ESR) eredményei nagyban hozzájárulnának

a ligandum Cu^{2+} -ion megkötő sajátosságának pontosabb feltérképezéséhez, de a ligandum korlátozott mennyisége következtében ezen vizsgálatok nem készültek el. A közelítő kísérleti adatok alapján, a két ligandum Cu^{2+} -ion megkötő képességét összevetve, azért megállapítható, hogy a hidroxamát-N koordinációból való kiiktatása következtében a kialakuló komplexekben a kötésmódok jelentősen nem változnak, de a mérésekből igazolást nyert, hogy a peptid-NH deprotonálódása és koordinációja az *N*-Me-származék esetén ~ 2 pH egységgel nagyobb pH-n következik be, mint az a primer analógot tartalmazó rendszerben az megfigyelhető.

5. ÖSSZEFOGLALÁS

A Debreceni Egyetem Szervetlen Kémiai Tanszékének Bioszervetlen Kémiai Kutatócsoportjában már több mint két évtizede foglalkoznak, nemzetközileg elismert szinten is, hidroxámsavak (általános képlet: $\text{R}_\text{C}\text{CONR}_\text{N}\text{OH}$) fémionokkal való oldatbeli kölcsönhatásának a tanulmányozásával. A vizsgált vegyületcsalád képviselői a közelmúltban egyre jobban a figyelem középpontjába kerülnek, mint potenciális metalloenzim inhibitor molekulák, többek között a Zn^{2+} -ion tartalmú mátrix metalloproteinázok és hiszton-deacetilázok esetén is. Az erős kelátképző hidroxamátcsoportnak köszönhetően az aktív centrumbeli fémionhoz koordinálódva meggátolják a szubsztrát kötődését, miáltal blokkolni képesek az enzim működését. Mindezen okok miatt tehát az inhibitor molekulák fémionokkal való oldategyensúlyi tanulmányozása az inhibíciós mechanizmus feltérképezése szempontjából az egyik kitüntetett feladat. Irodalmi eredmények mutatják, hogy az inhibíció szelektivitása, a molekuláris felismerés jelentősen befolyásolható, ha a hidroxámsavcsoport mellett a molekula egyéb, olyan koordinálódásra képes donorcsoport(ka)t is tartalmaz, melyek másodlagos kölcsönhatások kialakításával (pl. H-kötés, van der Waals kölcsönhatás) az enzim kötőhelyeinek azonosításában segíthetnek. Ennek eredményeként célul tűztük ki 12 szintetikus előállított olyan monohidroxámsav Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -ion megkötő sajátságának tanulmányozását, melyekben az R_C oldalláncban különböző típusú (amino-N, imidazol-N, peptidcsoport) és számú potenciális donorcsoport szerepel α -, β - vagy γ -helyzetben a hidroxámsavcsoporttól.

A vizes közegbeli oldategyensúlyi vizsgálatok elsődleges célja a képződő komplexek összetételének, stabilitási állandójának valamint kötésmódjának meghatározása volt, amihez pH-potenciometriát, UV-látható, CD, ESR és ^1H NMR spektroszkópiát valamint elektro-spray ionizációs tömegspektrometriát (ESI-MS) alkalmaztunk.

A munka során kapott fontosabb eredményeket az alábbi pontokban foglalhatjuk össze:

- A vizsgált ligandumok döntő többségükben már rendelkezésre álltak, de a jelen munka során is előállítottunk két új monohidroxámsavat (Z-Hisha és N-Me-Hisha).

- Meghatároztuk valamennyi vizsgált molekula savi disszociációs állandóit 0,20 M (KCl) ionerősség mellett. A tanulmányozott vegyületek közül hat esetében (N-Me- α -Alaha, N-Me- β -Alaha, im-4-Cha, N-Me-im-4-Cha, im-4-Aha és Hisha) a disszociációs állandók jó egyezést mutattak a Tanszéken már korábban meghatározott értékekkel, míg a másik hat ligandum esetén (Z-Hisha, N-Me-Hisha és a hisztidintartalmú peptidhidroxámsavak) a meghatározott adatok újak, korábbi irodalomban nem lelhetők fel. A makroállandók meghatározásán túl elsőként tettünk következtetéseket a molekulákbeli egyes donorcsoportok bázicitási sorrendjére is.

- Azon primer ($R_N = H$) monohidroxámsavak fémion megkötő sajátosságait tanulmányozva, melyek α -, β - vagy γ -helyzetben imidazol-N donoratomot tartalmaznak az R_C oldalláncban (im-4-Cha, im-4-Aha, Z-Hisha), megállapítottuk, hogy az imidazolcsoport minden esetben elsődleges fémion megkötőnek bizonyult, még a hidroxamát-oxigéneket jobban kedvelő Zn^{2+} -ion esetén is. (Az irodalomból jól ismert, hogy az aminocsoportot magukban foglaló analógoknál, α -Alaha, β -Alaha, GABAha, a horgonydonor szerepét döntően a hidroxamátcsoport tölti be.)

- Hasonlóan a primer aminosavak rendszereihez, a megfelelő imidazol-származékok Cu^{2+} -tartalmú rendszereiben is kialakul a fémkorona típusú polinukleáris részecske. Érdekes eredmény, hogy az im-4-Aha esetén Ni^{2+} - és Zn^{2+} -ionokkal is képződik e részecske, bár a Cu^{2+} -ionhoz képest kisebb stabilitással.

- Az R_C oldalláncban amino-N vagy imidazol-N donorcsoportokat tartalmazó szekunder ($R_N = CH_3$) monohidroxámsavak (N-Me- α -Alaha, N-Me- β -Alaha, N-Me-im-4-Cha) esetén megállapítottuk, hogy az aminocsoport β -helyzete elég ahhoz, hogy az a koordinációban már ne vegyen részt és mindhárom fémionnal csak hidroxamát-[O,O]-kelát alakuljon ki. Amennyiben azonban az aminocsoport α -helyzetben van, kötési izomerekben a hidroxamát-[O,O]-kelát mellett egy hattagú-[NH₂, O_{hidr}]-kelát képződését is igazoltuk.

- Az α -helyzetben imidazol-N donort magában foglaló szekunder molekula Cu^{2+} - és Ni^{2+} -tartalmú rendszereiben egy $[M_2L_3]^+$ összetételű részecske jelenlétét is

Imidazoltartalmú monohidroxámsavak oldatbeli kölcsönhatása Cu^{2+} -, Ni^{2+} - és Zn^{2+} -ionokkal

kimutattuk, melyben a három ligandumból az egyik hídként köt össze két monohidroxamátó-kelátos monomert. Ezen kötésmód érdekes lehet, mivel a katalitikus centrumban két fémiont tartalmazó metalloenzimeknél, hatásos inhibitorok tervezése kapcsán, több szerzőnél is lényeges szempontként fogalmazódik meg, hogy egyidejűleg lehetőleg mindkét fémionhoz tudjon koordinálódni az inhibitor molekula.

- A hisztidinhidroxámsav esetén, amelyben a fentebb említett két donorcsoport (amino-N és imidazol-N) mellett a hidroxamát-N is koordinálódhat ($R_N = H$), az irodalomból is már jól ismert kötésmódok lehetősége bővül. Összevetve a Hisha fémmegkötő sajátosságát *N*-Me származékával hasonlóságként mindenképpen megállapítható, hogy a Ni^{2+} -ion mindkét ligandummal döntően a nitrogén-donorokon, a Zn^{2+} -ion a hidroxamát-oxigéneken keresztül koordinálódik. Különbséggént jelentkezik azonban, hogy a Ni^{2+} -*N*-Me-Hisha rendszerben, szemben a primer analógiával, triszkomplex is képződik. A két ligandum Cu^{2+} -iont tartalmazó rendszereiben azonban nagyobb különbségek mutatkoznak a koordinációs módokat illetően. Irodalomból jól ismert, hogy a primer származéknál kisebb pH-n a hidroxamát-oxigének, a pH emelésével (pH ~ 5 felett) viszont már csak a nitrogén-donorok koordinációja a domináns a kialakuló komplexekben. Lényeges különbség mutatkozott azonban a Cu^{2+} -tartalmú rendszerek esetén. A Cu^{2+} -Hisha rendszerben a hidroxamát-oxigéneken indul a komplexképződés, mely a pH emelésével fokozatosan a nitrogénekre tevődik át. Ezzel ellentétben az *N*-Me-származék esetén a donoratomok fentebb említett elkülönülése a pH emelésével nem következik be. UV-Vis, CD és ESR mérésekkel is bizonyítottuk, hogy a $[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{2+}$ és $[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{2+}$ komplexekben is átlagosan egy [O,O]-, és egy $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{imid}}]$ -kelát Cu^{2+} -ionhoz történő koordinációja valósul meg, de a $[\text{CuLH}]^{2+}$ összetételű komplex is kétféle, az [O,O]- vagy $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{imid}}]$ kötésmóddal létezhet.

A dolgozatban tanulmányozott hisztidintartalmú peptidek hidroxámsavszármazékainál az R_C oldalláncban az amino-N és imidazol-N donorcsoportokon kívül további egy vagy két peptidcsoport is megtalálható, melyek bizonyos feltételek mellett (a fémion jellege, fémion-ligandum arány, a pH, stb.) deprotonálódhatnak és a többi donoratommal a fémionokhoz való koordinációjukkal stabilis, csatolt kelátrendszer alakulhat ki. Eredményeink szerint a kisebb bázicitású imidazol koordinációban való szerepe inkább kisebb pH-n

domináns, míg a bázikusabb hidroxamát a pH emelésével párhuzamosan válik meghatározóvá. Kivételt képez a Cu^{2+} -AlaAlaHisNHOH rendszer, ahol éppen a hidroxamát-oxigének részvételével indul a fémion-ligandum kölcsönhatás, de ezen donortatomok pH $\sim 7,5$ felett teljesen ki is szorúlnak a fémion koordinációs szférájából, és a stabilis, $[\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}^-, \text{N}_{\text{imid}}]$ -kelát kialakulása lesz a meghatározó. Összehasonlítva a Cu^{2+} - és Ni^{2+} -ionok ezen ligandumokkal való kölcsönhatását megállapítottuk, hogy a Cu^{2+} -ion az imidazol-N(3)-nel mindig kialakít valamiféle kölcsönhatást, pl. imidazol-hidas, di- és polinukleáris részecskék képződésével, mely az imidazol-gyűrű kivételes koordinációs képességét jól tükrözi. A Ni^{2+} -ion esetén azonban azt találtuk, hogy nagyobb pH-n az imidazol-N(3) kikerül a fémion koordinációs szférájából és helyette a hidroxamát-N részvételével kialakuló síknégyszetes geometriájú komplexek képződnek. A „leggyengébb” kölcsönhatást a Zn^{2+} -ionokat tartalmazó rendszerekben figyeltük meg. Ligandumtól függően, pH = 8 - 9 között csapadékleválás is bekövetkezett valamennyi tanulmányozott rendszer esetén, ami nehezítette a fémion-ligandum kölcsönhatás alaposabb feltérképezését. Az amid-N deprotonálódása egyetlen esetben sem volt bizonyítható. ^1H NMR mérésekkel igazoltuk, hogy mind a nitrogének, mind az oxigén-donorok fémionhoz való koordinálódása kötési izomerekben következik be, de hasonlóan más Zn^{2+} -amino- és peptidhidroxámsav rendszerekhez a hidroxamát-[O,O]-kelát kialakulása domináns.

6. SUMMARY

Nowadays the selective inhibition of metalloenzymes is an area of intense interest because numerous serious diseases are correlated with the dysfunction of these enzymes. For example, the zinc-containing matrix metalloproteinases (MMPs) play a determinant role in the evolvement of arthritis, periodontal diseases, multiple sclerosis and in the metastatic spread of various human cancers. This is one reason why the selective inhibition of MMPs has become one of the prominent drug design targets for medicinal chemists. Previous results involving zinc-containing histone deacetylases, MMPs, or nickel-containing ureases show that hydroxamic acids, which have good metal binding capability, are effective inhibitors of the enzymes. There is no doubt that the inhibitory effect is correlated with the chelation of the catalytic metal center, thereby the linkage of the substrate molecule is hindered. As a consequence, equilibrium studies between hydroxamic acids and various metal ions are important for better understanding the mechanism of the inhibition. The complex formation behaviour of different type of hydroxamic acid molecules with numerous metal ions has been studied for ca. 20 years at the Department of the Inorganic and Analytical Chemistry, University of Debrecen.

In this work the metal binding capability of 12 different synthetic hydroxamic acid molecules with Cu^{2+} -, Ni^{2+} - and Zn^{2+} -ions have been investigated by pH-potentiometry, UV-visible spectrophotometry, CD, EPR, ^1H NMR and ESI-MS techniques. Besides the hydroxamic acid group these molecules also contain different type of potential donor atoms at R_C side chain of the compound in α -, β - or γ -position to the functional group.

The major conclusions obtained from the results are as follows:

- Most of the studied ligands have already been prepared, but in this work new methods were also developed for synthesis of two monohydroxamate ligands (*N*-Me-Hisha and *Z*-Hisha).

- Acid dissociation constants of all the studied ligands at an ionic strength of 0,20 M (KCl) were determined by pH-potentiometry. In the case of six ligands (*N*-Me- α -Alaha, *N*-Me- β -Alaha, im-4-Cha, *N*-Me-im-4-Cha, im-4-Aha and Hisha) the results are in good agreement with those obtained earlier in our lab. For the new

molecules (*Z*-Hisha, *N*-Me-Hisha and histidine-containing peptidehydroxamic acids) the acid dissociation constants were not found in the literature. The pK_s values were determined for the first time and the basicity order of the individual groups was also concluded.

- For primary ($R_N = H$) monohydroxamates, which contain only imidazole-N donor atoms at α -, β - or γ -position in the R_C side chain (im-4-Cha, im-4-Aha, *Z*-Hisha), the less basic imidazole-N(3) was found to behave as anchor donor not only to Cu^{2+} and Ni^{2+} , but even to Zn^{2+} , although this latter metal ion prefers oxygen donors over nitrogen ones. (It is well-known that the hydroxamate group is the anchor in the case of molecules (α -Alaha, β -Alaha, GABAha) which contain amino-N in the side chain).

- Similarly to primary α -, β - and γ -aminohydroxamate systems, a pentanuclear metallocrown is unambiguously formed with all the imidazole-derivatives in the Cu^{2+} -containing systems. The presence of this polynuclear species with significantly lower stability in the Ni^{2+} - and Zn^{2+} -im-4-Aha systems was also observed.

- From the comparison of the metal binding ability of these molecules with those of secondary ($R_N = CH_3$) derivatives we can conclude that due to the β -position of the amino group formation of only hydroxamate type chelate was found with all the three metal ions. In contrast to this observation, formation of additional six-membered chelate via the amino-N and hydroxamate-O is suggested parallel to the hydroxamate one for *N*-Me- α -Alaha.

- Unfortunately, the synthesis of only one secondary imidazole-derivative was successful. This ligand contains the imidazole-N donor at the α -position in the side chain. Beside the mononuclear species, a dinuclear complex, $[M_2L_3]^+$, was found in the Cu^{2+} - and Ni^{2+} -*N*-Me-im-4-Cha system. A possible bonding mode is that one of the three ligands bridges two metal ions, while each of the other two ligands binds to one metal. Stacking interaction between the imidazole rings of the latter two ligands might stabilize this species. This binding mode is interesting because for the design of molecules with potential inhibitory effect on metalloenzymes having two metal ions in the catalytic centre, one of the most

important structural requirements is that the ligand is able to coordinate simultaneously both metal ions in the catalytic centre.

- For histidinehydroxamic acid containing two (amino-N and imidazole-N) additional donors beside the hydroxamic function, and the hydroxamate-N can also coordinate, the possibility of the coordination modes is wider. Comparison of the Ni^{2+} and Zn^{2+} binding ability of Hisha with the *N*-Me-derivative (*N*-Me-Hisha) similar coordination modes were defined, nevertheless formation of a tris complex with Ni^{2+} is also observed. In the Cu^{2+} -containing systems the coordination modes are different. In contrast to the complex formation in the Cu^{2+} -Hisha system, coordination of the metal ions via both hydroxamate-[O,O] and histamine-type- $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{imid}}]$ chelates were confirmed with the *N*-Me derivatives.

- Metal binding capability of peptidehydroxamic acids, having amino-N, imidazole-N and peptide group(s) in the R_C side chain, differ in many respects. Imidazole with lower basicity, compared to that of the hydroxamate gives a benefit to the former donor especially at lower pH and the role of the hydroxamate generally increases upon increasing the pH. In contrast to this, in the Cu^{2+} AlaAlaHisNHOH system, the hydroxamate takes part in the coordination only at lower pH, where the hydroxamate chelate can successfully compete with the amino-imidazole macrochelate, but can not compete with the very high stability 4N-coordinated (amino-N, amide-N, amide-N and imidazole-N(3) donors) bonding mode. As a consequence, in this system, the hydroxamate does not play a measurable role in the coordination at high pH.

Comparison of the coordination mode in the Cu^{2+} - and Ni^{2+} -containing systems one can conclude that the imidazole-N(3) plays a determinant role in the Cu^{2+} complexes, for example often imidazole-bridged di- and polynuclear species are formed. In contrast to it, in the Ni^{2+} -containing systems, instead of imidazole-N(3), formation of square planar complexes with the coordination of hydroxamate-N is generally more favoured at higher pH. With Zn^{2+} , formation of various bonding isomers with rather low stability was found. The complex formation does not start below pH ca. 6 and precipitation occurs at pH 8-9 depending on the ligand and Zn^{2+} to ligand ratio. The deprotonation and coordination of the peptide-N were not observed.

7. IRODALOMJEGYZÉK

1. N. N Greenwood, A. Earnshaw, Az elemek kémiája, Nemzeti Tankönyvkiadó (1999)
2. T. Frömmel, W. Peters, H. Wunderlich, W. Kuchen, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **31** (1992) 612
3. Kiss T, Gajda T, Gyurcsik B., Bevezetés a bioszervetlen kémiába, Nemzeti Tankönyvkiadó (2007)
4. S. B. Mulrooney, R. P. Hausinger, *FEMS Microbiology Reviews*, **27** (2003) 239
5. H. Dobbek, V. Svetlitchnyi, L. Gremer, R. Huber, O. Meyer, *Science*, **293** (2001) 1281
6. U. Ermler, W. Grabarse, S. Shima, M. Goubeaud, R. K. Thauer, *Science*, **278** (1997) 1457
7. D. P. Barondeau, C. J. Kassmann, C. K. Bruns, J. A. Tainer, E. D. Getzoff, *Biochem.*, **43** (2004) 8038
8. J. Wuerges, J. W. Lee, Y. In Yim, H. S. Yim, Sa-Ouk Kang, K. D. Carugo, *PNAS*, **101** (2004) 8569
9. A. E. Harvey and D. L. Manning, *J. Am. Chem. Soc.*, **72** (1950) 4498
10. D. A. Brown, W. K. Glass, R. Mageswaran, S. A. Mohamed, *Magn. Res. Chem.*, **29** (1991) 40
11. D. A. Brown, W. K. Glass, R. Mageswaran, B. Girmay, *Magn. Res. Chem.*, **26** (1998) 970
12. D. A. Brown, R. A. Coogan, N. J. Fitzpatrick, W. K. Glass, D. E. Abuksima, L. Shields, Ahlgrén, K. Smolander, T. T. Pakhanen, T. A. Pakhanen, M. Peräkylä, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, **2** (1996) 2673
13. N. J. Fitzpartik, R. Mageswaran, *Polyhedron*, **8** (1989) 2255
14. H. L. Yale, *Chem. Rev.*, **33** (1943) 209
15. A. H. Blatt in *Org. Synthesis Collection*, Wiley, New York (1943) vol. 2
16. J. Jones in *Amino Acids and Peptide Synthesis*, Oxford Chemistry Primers, Oxford University Press (1992) p. 32
17. A. M. Albrecht-Gary, A. L. Crumbliss in *Metal Ions in Biological Systems*, H. Sigel and A. Sigel (eds.), Marcel-Dekker, Inc, New York (1998) vol. 35

18. A. L. Crumbliss, in *CRC Handbook of Microbial Iron Chelates*, Ed.: G. Winkellmann, CRC, Boca Raton, FL. (1991)
19. M. Arnold, D. A. Brown, O. Deeg, W. Errington, W. Haase, K. Herlihy, T. J. Kemp, H. Nimir, R. Werner, *Inorg. Chem.*, **37** (1998) 2920
20. D. A. Brown, L. P. Cuffe, O. Deeg, W. Errington, N. J. Fitzpatrick, W. K. Glass, K. Herlihy, T. J. Kemp, H. Nimir, *Chem. Commun.*, (1998) 2433
21. T. Yatabe, Y. Kawai, T. Oku, H. Tanaka, *Chem. Pharm. Bull.*, **46** (1998) 966
22. E. M. F. Muri, M. J. Nieto, R. D. Sindelar, J. S. Williamson, *Current Med. Chem.*, **9** (2002) 1631
23. M. Whittaker, D. Floyd, P. Brown, A. J. Gearing, *Chem. Rev.*, **99** (1999) 2735
24. D. T. Puerta, S. M. Cohen, *Current Topics in Med. Chem.*, **4** (2004) 1551
25. A. D. Baxter, R. Bhogal, J. Bird, J. F. Keily, D. T. Manallack, J. G. Montana, D. A. Owen, W. R. Pitt, R. J. Watson, R. E. Wills, *Bioorg. Med. Chem. Letter*, **11** (2001) 1465
26. R. Jain, A. Sundram, S. Lopey, G. Neckermann, C. Wu, C. Hackbarth, D. Chen, W. Wang, N. S. Ryder, *Bioorg. Med. Chem. Letter*, **13** (2003) 4223
27. Xubo Hu, J. Zhu, S. Srivatshan, D. Pei, *Bioorg. Med. Chem. Letter*, **14** (2004) 77
28. D. T. Puerta, M. O. Griffin, J. A. Lewis, D. Romero-Perez, R. Garcia, F. J. Villarreal, S. M. Cohen, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **11** (2006) 131
29. M. G. Natchus, R. G. Bookland, Biswanath De, N. G. Almstead, S. Pikul, M. J. Janusz, S. A. Heitmeyer, E. B. Hookfin, L. C. Hsieh, M. E. Dowty, C. R. Dietsch, V. S. Patel, S. M. Garver, F. Gu, M. E. Pokross, G. E. Mieling, T. R. Baker, D. J. Foltz, S. X. Peng, D. M. Bornes, M. J. Strojnowski, Y. O. Taiwo, *J. Med. Chem.*, **43** (2000) 4948
30. E. Farkas, E. Kozma, M. Pethő, K. M. Herlihy, G. Micera, *Polyhedron*, **17** (1998) 3331
31. E. Farkas, É. A. Enyedy, H. Csóka, *J. Inorg. Biochem.*, **79** (2000) 205
32. M. T. Craudle, R. D. Stevens, A. L. Crumbliss, *Inorg. Chem.*, **33** (1994) 4077
33. E. Farkas, T. Kiss, B. Kurzak, *J. Chem. Soc. Perkin. Trans.*, **2** (1990) 1255
34. B. Kurzak, H. Kozłowski, P. Decock, *J. Inorg. Biochem.*, **41** (1991) 71

35. E. Farkas, D. Bátka, H. Csóka, N. V. Nagy, *Bioinorg. Chem. and Appl.*, doi: 10.1155/2007/ 96536
36. B. Kurzak, H Kozlowski, E. Farkas; *Coord. Chem. Reviews*, **114** (1992) 169
37. C.A. Chang, V.C. Sekhar, B.S. Garg, F.S. Guziec, T.C. Russo, *Inorg. Chim. Acta*, **135** (1987) 11
38. D.A. Brown, R. Mageswaran, *Inorg. Chim. Acta*, **161** (1989) 267
39. E. Farkas, I. Kiss, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1990) 749
40. P. Buglyó, E. M. Nagy, E. Farkas, I. Sóvágó, D. Sanna, G. Micera, *Polyhedron*, **26** (2007) 1625
41. P. Buglyó, E. M. Nagy, E. Farkas, I. Sóvágó, D. Sanna, G. Micera, *összeállítás alatt*
42. Nagy Eszter Márta, doktori (Ph.D.) értekezés, Debrecen, 2006
43. G. Schwarzenbach, K. Schwarzenbach, *Helv. Chim. Acta*, **46** (1963) 1390
44. G. Anderegg, F. L `Eplattenier, G. Schwarzenbach, *Helv. Chim. Acta*, **46**, (1963) 1400
45. G. Anderegg, F. L `Eplattenier, G. Schwarzenbach, *Helv. Chim. Acta*, **46** (1963) 1409
46. C. P. Brink, A. L. Crumbliss, *Inorg. Chem.*, **23** (1984) 4708
47. B. Monzyk, A. L. Crumbliss, *J. Am. Chem. Soc.*, **101** (1979) 6203
48. A. Evers, R. D. Hancock, A. E. Martell, R. J. Motekaitis, *Inorg. Chem.*, **28** (1989) 2189
49. K. Abu-Dari, J. D. Ekstrand, D. P. Freyberg, K. N. Raymond, *Inorg. Chem.*, **18** (1979) 108
50. S. J. Barclay, B. H. Huynh, K. N. Raymond, *Inorg. Chem.*, **23** (1984) 2011
51. E. Farkas, K. Megyeri, L. Somsák, L. Kovács, *J. Inorg. Biochem.*, **70** (1998) 4
52. E. Farkas, É. A. Enyedy, H. Csóka, *Polyhedron*, **18** (1999) 2391
53. E. Farkas É. A. Enyedy, G. Micera, E. Garribba, *Polyhedron*, **19** (2000) 1727
54. E. Farkas, P. Buglyó, É. A. Enyedy, M. A. Santos, *Inorg. Chim. Acta*, **357** (2004) 2451
55. E. Farkas, P. Buglyó, É. A. Enyedy, V. A. Gerlei, A. M. Santos, *Inorg. Chim. Acta*, **339** (2002) 215

56. B. Kurzak, L. Nakonieczna, G. Rusek, H. Kozlowski, E. Farkas, *J. Coord. Chem.*, **28** (1993) 17
57. D. Bátka, E. Farkas, P. Buglyó, Z. Pataki, M. A. Santos, *Dalton Trans.*, (2004) 1248
58. E. Farkas, H. Csóka, G. Micera, A. Dessi, *J. Inorg. Biochem.*, **65** (1997) 281
59. E. Farkas, H. Csóka, I. Tóth, *Dalton Trans.*, (2003) 1645
60. É. A. Enyedy, I. Pócsi, E. Farkas, *J. Inorg. Biochem.*, **98** (2004) 1957
61. E. Farkas, D. Bátka, G. Kremper, I. Pócsi, *J. Inorg. Biochem.*, **102** (2008) 1654
62. Szabó Orsolya, Diplomamunka, Debreceni Egyetem Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék, 2009
63. E. B. Paniago, S. Carvalho, *Inorg. Chim. Acta*, **92** (1984) 253
64. B. Kurzak, K. Kurzak, J. Jezierska, *Inorg. Chim. Acta*, **125** (1986) 77
65. B. Kurzak, K. Kurzak, J. Jezierska, *Inorg. Chim. Acta*, **130** (1986) 189
66. E. Leporati, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1986) 2587
67. D. Fournand, J. L. Pirat, F. Bigey, A. Arnaud, P. Galzy, *Anal. Chim. Acta*, **353** (1997) 35
68. T. N. Parac-Vogt, A. Pacco, P. Nockemann, S. Laurent, R. N. Muller, M. Wickleder, G. Meyer, L. Vander Elst, K. Binnemans, *Chem. Eur. J.*, **12** (2006) 204
69. E. Farkas, J. Szóke, T. Kiss, H. Kozlowski, W. Bal, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1989) 2247
70. B. Kurzak, E. Farkas, T. Glowiak, H. Kozlowski, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1991) 163
71. B. Kurzak, E. Farkas, *J. Coord. Chem.*, **28** (1993) 203
72. E. Farkas, E. Kozma, T. Kiss, I. Tóth, B. Kurzak, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1995) 477
73. D. A. Brown, A. L. Roche, T. A. Pakkanen, T. T. Pakkanen, K. Smolander, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, (1982) 676
74. J. J. Bodwin, A. D. Cutland, R. G. Malkani, V. L. Pecoraro, *Coord. Chem. Rev.*, **216-217** (2001) 489
75. M. Careri, F. Dallavalle, M. Tegoni, I. Zagnoni, *J. Inorg. Biochem.*, **93** (2003) 174

76. F. Dallavalle, M. Tegoni, *Polyhedron*, **20** (2001) 103
77. F. Dallavalle, M. Tegoni, *Polyhedron*, **20** (2001) 2697
78. M. Tegoni, L. Ferretti, F. Sansone, M. Remelli, V. Bertolasi, F. Dallavalle, *Chem. Eur J.*, **13** (2007) 1300
79. M. Tegoni, M. Remelli, D. Bacco, L. Marchió, F. Dallavalle, *Dalton Trans.*, (2008) 2693
80. E. Leporati, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1987) 435
81. M. S. El-Ezaby, N. M. Shuaib, H. M. Marafie, M. M. Hassan, *J. Inorg. Biochem.*, **33** (1988) 161
82. B. Kurzak, W. Bal, H. Kozłowski, *J. Inorg. Biochem.*, **38** (1990) 9
83. E. Farkas, B. Kurzak, *J. Coord. Chem.*, **22** (1990) 145
84. E. Farkas, D. A. Brown, R. Cittaro, W. K. Glass, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1993) 2803
85. E. Farkas, H. Csóka, G. Bell, D. A. Brown, L. P. Cuffe, N. J. Fitzpatrick, W. K. Glass, W. Errington, T. J. Kemp, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1999) 2789
86. B. Kurzak, K. Bogusz, D. Kroczevska, J. Jezierska, *Polyhedron*, **20** (2001) 2627
87. É. A. Enyedy, H. Csóka, I. Lázár, G. Micera, E. Garribba, E. Farkas, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (2002) 2632
88. M. Tegoni, F. Dallavalle, M. A. Santos, *J. Inorg. Biochem.*, **98** (2004) 209
89. B. Kurzak, A. Kamecka, K. Bogusz, J. Jezierska, *Polyhedron*, **26** (2007) 4223
90. B. Kurzak, A. Kamecka, K. Bogusz, J. Jezierska, *Polyhedron*, **26** (2007) 4345
91. I. Sóvágó, G. Petocz, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1987) 1717
92. G. F. Bryce, R. W. Roeske, F. R. N. Gurd, *J. Biol. Chem.*, **240** (1965) 3837
93. J. F. Blount, K. A. Fraser, H. L. Freeman, J. T. Szymanski, C.H. Wong, *Acta Crystallogr.*, **22** (1967) 396
94. H. Kozłowski, W. Bal, M. Dyba, T. Kowalik-Jankowska: *Coord. Chem. Rev.*, **184** (1999) 319
95. H. Sigel, R. B. Martin, *Chem. Rev.*, **82** (1982) 385
96. H. Kozłowski, T. Kowalik-Jankowska, M. Jezowska-Bojczuk: *Coord. Chem. Rev.*, **249** (2005) 2323

97. I. Sóvágó, K. Ösz, *Dalton Trans.*, (2006) 3841
98. T. Gajda, B. Henry, A. Aubry, J. J. Delpuech, *Inorg. Chem.*, **35** (1996) 586
99. N. I. Jakab, B. Gyurcsik, T. Körtvélyesi, I. Vosekalna, J. Jensen, E. Larsen, *J. Inorg. Biochem.*, **101** (2007) 1376
100. I. Sóvágó, in: *Biocoordination Chemistry: Metal Complexes of Peptides and Their Derivatives* (ed.: K. Burger), Ellis Horwood, Chichester, New York, (1990) p. 135
101. T. Kowalik-Jankowska, H. Kozłowski, E. Farkas, I. Sóvágó: *Metal Ions in Life Sciences* (ed.: A. Sigel, H. Sigel, R.K.O. Sigel), (Nickel and its Surprising Impact in Nature), **2** (2007) p. 63
102. E. Prenesti, P.G. Daniele, M. Prencipe, G. Ostacoli, *Polyhedron*, **18** (1999) 3233
103. T. Kunitake, S. Horie, *Bull. Soc. Chem. Japan*, **48** (1975) 1304
104. B. Kurzak, D. Kroczevska, J. Jezierska, M. Huza-Koralewicz, *Trans. Met. Chem.*, **13** (1988) 297
105. Erdei L., *A kémiai analízis súlyszerinti módszerei*, Akadémia Kiadó, Budapest (1960)
106. D. D. Perrin and W. L. F. Armarego in *Purification of Laboratory Chemicals*, Pergamon, Oxford (1988)
107. L. Zékány and I. Nagypál, in *Computational Methods for the Determination of Stability Constants*, ed.: D. Leggett, Plenum Press, New York, (1985)
108. H. M. Irving, M.G. Miles, L. D. Pettit, *Anal. Chim. Acta*, **38** (1967) 475
109. Eriksson, G.: *Anal. Chim. Acta*, **112** (1979) 375
110. T. Mussini, A. K. Covington, P. Longhi, S. Rondinini, *Pure and Appl. Chem.*, **57** (1985) 865
111. P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1985) 1195
112. G. Gran, *Acta Chem. Scan.*, **4** (1950) 559
113. Enyedy Éva Anna, doktori (Ph.D.) értekezés, Debrecen, 2002
114. H. Gampp, H. Sigel, A. D. Zuberbüchler, *Inorg. Chem.*, **21** (1982) 1190
115. Császár J., Bán M., *Optikai színeképek, ligandumtér-elmélet, komplexszerkezet*, Akadémiai Kiadó, Budapest (1972)
116. Burger K., *Modern koordinációs kémiai vizsgáló módszerek*, Akadémiai Kiadó, Budapest (1967) 249

117. R. B. Martin, in *Metal Ions in Biological Systems*, ed. H. Sigel, Dekker, New York, **1** (1974) 129
118. H. Kozłowski, G. Micera, in *Handbook of Metal-Ligand Interactions in Biological Fluids*, ed. G. Berthon, Dekker, New York, **1** (1995) 566
119. A. Rockenbauer, L. Korecz, *Appl. Magn. Reson.*, **10** (1996) 29
120. D. J. Harvey, *Mass Spectrometry Rev.*, **18** (1999) 349
121. K. Ősz, G. Lente, Cs. Kállay, *J. Phys. Chem. B*, **109** (2005) 1039
122. C. L. Perrin, M. A. Fabian, *Anal. Chem.*, **68** (1996) 2127
123. Antus S, Mátyus S, Szerves kémia II, Nemzeti Tankönyvkiadó (2006)
124. E. M. Bianchi, R. Griesser, H. Sigel, *Helv. Chim. Acta.*, **88** (2005) 406
125. Nagypál István, kandidátusi értekezés, Debrecen, 1984
126. I. Sóvágó, E. Farkas, T. Jankowska, H. Kozłowski, *J. Inorg. Biochem.*, **51** (1993) 715
127. Nagy Nóra Veronika, nem publikált eredmények
128. A. Gergely, I. Sóvágó, *Inorg. Chim. Acta*, **20** (1976) 19
129. I. Török, T. Gajda, B. Gyurcsik, G. K. Tóth. A. Péter, *J. Chem. Soc., Dalton. Trans.*, (1998) 1205
130. E. Farkas, E. Csapó, P. Buglyó, C.A. Damante, G. Di Natale, *Inorg. Chim. Acta*, **342** (2009) 753
131. T. Kowalik-Jankowska, M. Ruta-Dolejsz, K. Wisniewskab, L. Lankiewicz, *J. Inorg. Biochem.*, **92** (2002) 1
132. K. Nakamoto, P.J. McCarthy (Eds): *Spectroscopy and Structure of Metal Chelate Compounds*; John Wiley and Sons, New York, **1968**.
133. I. Sóvágó, E. Farkas, A. Gergely, *J. Chem. Soc., Dalton. Trans.*, (1982) 2159
134. L. E. Kapinos, B. Song, H. Sigel, *Inorg. Chim. Acta*, **280** (1998) 50
135. E. Farkas, I. Sóvágó, A. Gergely, *J. Chem. Soc., Dalton. Trans.*, (1983) 1545
136. T. Sakurai, A. Nakahara, *Inorg. Chem.*, **19** (1980) 84

8. FÜGGELÉK

8.1. Az értekezés anyagához kapcsolódó közlemények

1. E. Csapó, E. Farkas, P. Buglyó, N. V. Nagy, M. A. Santos: **Synthesis and characterization of Cu^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} binding capability of histidinehydroxamic acid derivatives**

közlésre előkészítve

2. E. Farkas, E. Csapó, P. Buglyó, C. A. Damante, G. Di Natale: **Metal binding ability of histidine-containing peptidehydroxamic acids: Imidazole versus hydroxamate coordination**

Inorganica Chimica Acta, **342** (2009) 753

3. E. Farkas, D. Bátka, E. Csapó, P. Buglyó, W. Haase, D. Sanna: **Synthesis and Characterization of Cu^{2+} , Ni^{2+} and Zn^{2+} Binding Capability of Some Amino- and Imidazole Hydroxamic Acids: Effects of Substitution of Side Chain Amino-N for Imidazole-N or Hydroxamic-N-H for -N-CH₃ on Metal Complexation**

Polyhedron, **26** (2007) 543

8.2. Az értekezés anyagához kapcsolódó előadások, poszterek

1. E. Csapó, E. Farkas, P. Buglyó, M. A. Santos (poszter): **Characterization of Cu^{2+} , Ni^{2+} and Zn^{2+} binding capability of histidinehydroxamic acid derivatives**

10th International Symposium on Applied Bioinorganic Chemistry, 25th – 28th September, 2009, Debrecen, Hungary

2. Csapó E., Farkas E. (előadás): **Hisztidinhidroxámsav származékok oldatbeli kölcsönhatása Cu(II) -, Ni(II) - és Zn(II) -ionokkal**

XLIV. Komplexkémiái Kollokvium, 2009. május 27-29, Siófok, Magyarország

3. E. Csapó, E. Farkas, C. A. Damante, G. Di Natale (angol nyelvű előadás): **Imidazole versus hydroxamate preference in Cu^{2+} and Ni^{2+} complexes of histidine-containing peptidehydroxamic acids**

4th Central European Conference Chemistry towards Biology, 8th – 11th September, 2008, Dobogókő, Hungary

4. E. Farkas, E. Csapó, P. Buglyó, C. A. Damante, G. Di Natale (poszter): **Cu^{2+} , Ni^{2+} and Zn^{2+} complexes of histidine-containing potential metalloenzyme inhibitor peptidehydroxamic acids: Metal dependent competition between imidazole-*N* and hydroxamate-*N***

4th EuCheMS Conference on Nitrogen Ligands, 24th – 28th August, 2008, Garmisch-Partenkirchen, Germany

5. E. Farkas, D. Bátka, E. Csapó and P. Buglyó (poszter): **Effects of R_N and R_C Substituents on the Metal Binding Capability of Potentially Metalloenzyme Inhibitor Hydroxamic Acids**

2nd European Conference on Chemistry for Life Sciences, 4th - 8th September, 2007, Wrocław, Poland

6. E. Csapó, E. Farkas, P. Buglyó, G. Pappalardo, D. Sanna (angol nyelvű előadás): **The role of imidazole in the metal binding ability of histidine containing peptidehydroxamic acids**

2nd European Conference on Chemistry for Life Sciences, 4th - 8th September, 2007, Wrocław, Poland

7. Csapó E., Farkas E., Buglyó P., G. Pappalardo (előadás): **Hisztidint tartalmazó peptidhidroxámsavak kölcsönhatása Cu(II) -, Ni(II) - és Zn(II) ionokkal**

XLII. Komplexkémiái Kollokvium, 2007. május 23-25, Mátrafüred, Magyarország

8. Csapó E., Farkas E. (előadás): **Új sziderofór modellek Cu(II) , Ni(II) és Zn(II) komplexeinek oldategyensúlyi vizsgálata**

XXIX. Kémiai Előadói Napok, 2006. október 30–31, Szeged, Magyarország

8.3. Az értekezés anyagához szorosan nem kapcsolódó közlemények

1. M. Jarenmark, E. Csapó, E. Farkas, M. Haukka, E. Nordlander: **Unsymmetrical dizinc complex as model for the active sites of phosphohydrolases**

Dalton Trans., *elfogadva*

2. H. Müller, B. Bauer-Siebenlist, E. Csapó, S. Dechert, E. Farkas, F. Meyer: **New pyrazole-based ligands with two tripodal binding pockets: Potential scaffolds for metalloprotein modeling**

Inorganic Chemistry, **47** (12) (2008) 5278

8.4. Az értekezés anyagához szorosan nem kapcsolódó előadások, poszterek

1. S. Chaves, R. Jelic, E. Csapó, F. A. Danalache, D. Silva, E. Farkas, M. A. Santos (poszter): **Molybdenum(VI) complexation of hydroxy(thio)pyridinones with potential biological significance**

10th International Symposium on Applied Bioinorganic Chemistry, 25th – 28th September, 2009, Debrecen, Hungary